

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC

NGUYỄN ĐẮC NGUYỄN

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG STRESS OXY HOÁ LÊN
CHỨC NĂNG SINH SẢN Ở NAM GIỚI
VÀ KẾT QUẢ CỦA LIỆU PHÁP CHỐNG OXY HÓA**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Ngành: SẢN PHỤ KHOA

Mã số: 9 72 01 05

HUẾ - NĂM 2025

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y - DƯỢC

NGUYỄN ĐẮC NGUYỄN

**NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG STRESS OXY HOÁ LÊN
CHỨC NĂNG SINH SẢN Ở NAM GIỚI
VÀ KẾT QUẢ CỦA LIỆU PHÁP CHỐNG OXY HÓA**

Ngành: SẢN PHỤ KHOA

Mã số: 9 72 01 05

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

PGS.TS. LÊ MINH TÂM

GS.TS. CAO NGỌC THÀNH

HUẾ - NĂM 2025

Lời Cảm Ơn

Qua quá trình học tập và hoàn thành luận án này, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đến:

Ban Giám hiệu Trường Đại học Y – Dược, Đại học Huế, Ban Giám đốc Đại học Huế và Phòng Đào tạo sau Đại học của Đại học Huế, Ban Giám đốc Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế đã tạo điều kiện để cho tôi được thực hiện nghiên cứu sinh tại Đại học Huế.

Đặc biệt, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn và kính trọng sâu sắc đến Thầy PGS.TS. Lê Minh Tâm, và Thầy GS.TS. Cao Ngọc Thành. Quý Thầy đã truyền đạt kiến thức, tận tình hướng dẫn, động viên khích lệ và đã truyền dạy cho tôi rất nhiều kỹ năng quý giá và sự say mê nghiên cứu khoa học; đồng thời tôi còn học được ở Thầy những phẩm chất tốt đẹp của Nhà khoa học, Nhà giáo, Bác sĩ.

Tôi xin chân thành cảm ơn các bác sĩ, đồng nghiệp, nữ hộ sinh tại Trung tâm Nội tiết sinh sản và vô sinh, Bệnh viện Đại học Y Dược Huế đã hỗ trợ tôi trong công tác thực hiện nghiên cứu tại Trung tâm, cùng cán bộ nhân viên của Khoa xét nghiệm trung tâm, thăm dò chức năng Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế.

Bên cạnh đó, Ban chủ nhiệm cùng quý Thầy Cô Bộ môn Phụ sản đã nhiệt tình giảng dạy, truyền đạt cho tôi kiến thức chuyên môn cũng như tạo điều kiện thuận lợi cho tôi tham gia học nghiên cứu sinh.

Tôi xin ghi nhớ và biết ơn sự đồng ý tình nguyện tham gia nghiên cứu của những bệnh nhân trong nghiên cứu của tôi.

Xin thành kính cảm ơn Cha Mẹ. Xin đặc biệt dành tình cảm yêu thương, cảm ơn Vợ và hai con đã luôn yêu thương và chia sẻ. Trân trọng tình cảm của những người Bạn yêu quý, là nguồn cổ vũ mạnh mẽ giúp tôi hoàn thành luận án.

Huế, tháng 08 năm 2025

Nguyễn Đắc Nguyên

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của chính bản thân tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác.

Tác giả luận án

Nguyễn Đắc Nguyên

DANH MỤC TỪ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
ABP	Androgen binding protein	Protein liên kết androgen
ATP	Adenosine triphosphate	
AUC	Area under the ROC Curve	Diện tích dưới đường cong ROC
BMI	Body mass index	Chỉ số khối cơ thể
CASA	Computer - aided sperm analysis	Hệ thống phân tích tinh trùng tự động
CoQ10	Coenzyme Q10	
Comet		Điện di tế bào trên gel
DFI	DNA fragmentation index	Chỉ số đứt gãy DNA
DNA	Deoxyribonucleic Acid	
ĐLC		Độ lệch chuẩn
EDV	End-diastolic velocity	Vận tốc cuối tâm trương
FSH	Follicle-stimulating hormone	Hormon kích thích nang noãn
GPx	Glutathione peroxidase	Enzyme peroxidase hoá glutathione
GTMTT		Giãn tĩnh mạch tinh
HA		Huyết áp
ICSI	Intra-Cytoplasmic Sperm Injection	Tiêm tinh trùng vào bào tương noãn
IIEF	the International Index of Erectile Function	Thang điểm quốc tế về chức năng cương
IL	Interleukin	
IUI	Intrauterine insemination	Bơm tinh trùng vào buồng tử cung
IVF	In vitro Fertilization	Thụ tinh trong ống nghiệm

KTC		Khoảng tin cậy
LC	L-Carnitine	
LH	Luteinizing hormone	Hormon hoàng thể
LPO	Lipid peroxidation	Sự peroxidase hoá lipid
MDA	Malondialdehyde	
MiOXSYS	Male Infertility Oxidative System	
NAC	N-acetyl cystein	
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	
NO	Nitric Oxide	
NST		Nhiễm sắc thể
OAT	Oligoasthenoteratozoospermia	
ORP	Oxidation - Reduction Potential	Cân bằng thế oxy hoá khử
OS	Oxidative stress	Stress Oxy hoá
PEDT	Premature Ejaculation Diagnostic tool	Bộ câu hỏi chẩn đoán xuất tinh sớm
PSV	Peak systolic velocity	Vận tốc tâm thu đỉnh
RCT	Randomized controlled trial	Thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng
RI	Resistive index	Chỉ số trở kháng
ROS	Reactive-oxygen species	Các gốc oxy hoá
SCD	Sperm chromatin dispersion	Phân tán chất nhiễm sắc tinh trùng
SCSA	Sperm chromatin structure assay	Xét nghiệm cấu trúc nhiễm sắc thể tinh trùng
SDF	Sperm DNA fragmentation	Đứt gãy DNA tinh trùng
Se	Selenium	
SOD	Superoxide dismutase	Enzyme chuyển hoá các superoxide

TAC	Total antioxidant capacity	Chỉ số tổng lượng các chất chống oxy hoá
TB		Trung bình
TT		Tình trạng
TUNEL	Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP	
TV		Trung vị
WHO	World Health Organization	Tổ chức Y tế Thế giới

MỤC LỤC

Trang

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Sự sinh tinh	3
1.2. Chức năng sinh sản của nam giới	7
1.3. Tổng quan về stress oxy hoá.....	11
1.4. Chẩn đoán stress oxy hoá	24
1.5. Liệu pháp can thiệp.....	30
1.6. Các nghiên cứu có liên quan trong và ngoài nước	37
Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	41
2.1. Đối tượng nghiên cứu và địa điểm nghiên cứu.....	41
2.2. Phương pháp nghiên cứu	42
2.3. Các biến số nghiên cứu.....	62
2.4. Xử lý số liệu.....	68
2.5. Đạo đức nghiên cứu	70
Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	71
3.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu.....	71
3.2. Khảo sát ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng dựa vào kết quả tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng ở các trường hợp vô sinh.	77
3.3. Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hoá lên một số chỉ số chất lượng tinh trùng.....	89
Chương 4. BÀN LUẬN.....	107
4.1. Bàn luận thiết kế nghiên cứu và kỹ thuật đánh giá stress oxy hoá - khử trong tinh dịch	107
4.2. Khảo sát ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng dựa vào kết quả tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng ở các trường hợp vô sinh.....	110
4.3. Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hoá lên một số chỉ số chất lượng tinh trùng.....	127

4.4. Một số ưu điểm và hạn chế của nghiên cứu	136
KẾT LUẬN.....	138
KIẾN NGHỊ.....	140
TÀI LIỆU THAM KHẢO	141
CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Trang

Bảng 1.1. Kết quả phân tích tinh dịch đồ theo WHO 2021	9
Bảng 1.2. Ưu và nhược điểm của phương pháp đo ORP trong tinh dịch	27
Bảng 1.3. So sánh giữa quang hoá học và ORP	28
Bảng 2.1. Đánh giá kết quả tinh dịch đồ	52
Bảng 2.2. Mô tả các biến số nghiên cứu chính của nghiên cứu	62
Bảng 2.3. Phân loại BMI của WHO cho người Châu Á	65
Bảng 2.4. Ý nghĩa của diện tích dưới đường biểu diễn ROC	69
Bảng 3.1. Đặc điểm nhân khẩu học.....	71
Bảng 3.2. Tiền sử bệnh lý và một số yếu tố lối sống	72
Bảng 3.3. Đặc điểm nhân trắc học	73
Bảng 3.4. Đặc điểm nội tiết	73
Bảng 3.5. Đặc điểm về hội chứng chuyển hoá ở nhóm nghiên cứu	74
Bảng 3.6. Đặc điểm cơ quan sinh dục	74
Bảng 3.7. Đặc điểm về siêu âm bìu	75
Bảng 3.8. Phân bố tình trạng rối loạn chức năng tình dục tổng thể theo thang điểm IIEF-15	76
Bảng 3.9. Tỷ lệ và điểm của thang đo IIEF	76
Bảng 3.10. Kết quả đánh giá stress oxy hóa theo ORP.....	77
Bảng 3.11. Kết quả tinh dịch đồ	77
Bảng 3.12. Kết quả xét nghiệm đánh giá đứt gãy DNA tinh trùng bằng Halosperm	78
Bảng 3.13. Các nhóm bệnh nhân theo mức độ đứt gãy DNA tinh trùng bằng Halosperm	78
Bảng 3.14. Liên quan giữa một số đặc điểm chung và yếu tố lối sống với ORP	79
Bảng 3.15. Liên quan giữa tiền sử bệnh lý với ORP	79
Bảng 3.16. Liên quan giữa đặc điểm nhân trắc học bệnh lý với ORP	80
Bảng 3.17. Liên quan giữa mật độ tinh hoàn, mào tinh với stress oxy hóa	81

Bảng 3.18. Liên quan giữa các bất thường sinh dục với stress oxy hóa	81
Bảng 3.19. Hệ số tương quan giữa các vấn đề chỉ số IIEF với ORP	82
Bảng 3.20. Liên quan giữa Hội chứng chuyển hóa và stress oxy hóa	82
Bảng 3.21. Liên quan giữa kết quả tinh dịch đồ và stress oxy hóa	83
Bảng 3.22. Giá trị dưới đường cong ROC của ORP trong dự báo kết quả tinh dịch đồ bất thường.....	84
Bảng 3.23. Giá trị dưới đường cong ROC của ORP trong dự báo kết quả mật độ tinh trùng bất thường	85
Bảng 3.24. Liên quan giữa kết quả Halosperm và ORP	86
Bảng 3.25. Giá trị dưới đường cong ROC của ORP trong dự báo kết quả tăng đứt gãy DNA tinh trùng.....	87
Bảng 3.26. Môi liên quan định lượng giữa chỉ số ORP và các yếu tố liên quan	88
Bảng 3.27. Đặc điểm chung của nhóm nam giới tham gia điều trị.....	89
Bảng 3.28. Tỷ lệ cải thiện các chỉ số đánh giá chất lượng tinh trùng trước và sau điều trị	90
Bảng 3.29. Điểm rối loạn cương theo thang điểm IIEF trước và sau điều trị	91
Bảng 3.30. Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị	92
Bảng 3.31. Kết quả xét nghiệm Halosperm trước và sau điều trị	93
Bảng 3.32. Kết quả xét nghiệm ROS trước và sau điều trị.....	94
Bảng 3.33. Điểm rối loạn cương theo thang điểm IIEF trước và sau điều trị	94
Bảng 3.34. Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị	95
Bảng 3.35. Kết quả xét nghiệm Halosperm trước và sau điều trị	96
Bảng 3.36. Điểm rối loạn cương theo thang điểm IIEF trước và sau điều trị	97
Bảng 3.37. Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị	98
Bảng 3.38. Kết quả xét nghiệm Halosperm và ORP trước và sau điều trị	99
Bảng 3.39. Kết quả xét nghiệm ROS trước và sau điều trị	100
Bảng 3.40. Điểm rối loạn cương theo thang điểm IIEF trước và sau điều trị	100
Bảng 3.41. Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị	101
Bảng 3.42. Sự thay đổi kết quả xét nghiệm Halosperm trước và sau điều trị	102

Bảng 3.43. Các đặc điểm chung và kết quả điều trị	103
Bảng 3.44. Đặc điểm chung và kết quả điều trị	104
Bảng 3.45. Liên quan giữa kết quả tinh dịch đồ lên kết quả điều trị	105
Bảng 3.46. Giá trị dưới đường cong ROC của ORP trong dự báo khả năng đáp ứng với phác đồ chống oxy hoá nhằm cải thiện đứt gãy DNA tinh trùng..	106
Bảng 4.1. Kết quả một số nghiên cứu về đứt gãy DNA tinh trùng và các tác động lên chất lượng tinh trùng	116
Bảng 4.2. Giá trị ORP trong tinh dịch ở nam giới	118
Bảng 4.3. Ngưỡng cắt của ORP tinh dịch nhằm tiên lượng chất lượng tinh trùng.	126

DANH MỤC BIỂU ĐỒ, SƠ ĐỒ

Trang

Biểu đồ 1.1. Mối liên quan giữa đặc điểm các chỉ số tinh dịch đồ so với thời gian sử dụng điện thoại	16
Biểu đồ 1.2. Sự thay đổi của SOD và TAC sau khi kích thích nhiệt vùng bìu.....	18
Biểu đồ 1.3. Sự thay đổi của mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới sau kích thích nhiệt vùng bìu	18
Biểu đồ 1.4. Đường cong ROC xác định ngưỡng ORP.....	30
Biểu đồ 3.1. Phân loại vô sinh.....	72
Biểu đồ 3.2. Giá trị ORP trong phân biệt kết quả tinh dịch đồ bình thường	84
Biểu đồ 3.3. Giá trị ORP trong phân biệt kết quả mật độ tinh trùng bất thường	85
Biểu đồ 3.4. Giá trị ORP chẩn đoán đứt gãy DNA tinh trùng	87
Sơ đồ 2.1. Quy trình thực hiện nghiên cứu*	61

DANH MỤC HÌNH

Trang

Hình 1.1. Sơ đồ các giai đoạn chính trong quá trình sinh tinh.....	3
Hình 1.2. Sự biến đổi tinh tử thành tinh trùng	5
Hình 1.3. Ảnh hưởng của nội tiết lên sự sinh tinh	7
Hình 1.4. Nguồn gốc stress oxy hoá và cơ chế tác động	12
Hình 1.5. Sự sinh tổng hợp tinh trùng trong điều kiện nhiễm trùng	15
Hình 1.6. Liên quan giữa sản xuất gốc oxy hoá và kỹ thuật hỗ trợ sinh sản	18
Hình 1.7. Quá trình tác động của stress oxy hoá	22
Hình 1.8. Hệ thống MiOXSYS (A), bộ cảm biến để tiến hành xét nghiệm.....	26
Hình 1.9. Các yếu tố lối sống ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng	35
Hình 2.1. Thước đo Prader đánh giá thể tích tinh hoàn	46
Hình 2.2. Độ nhớt cao của mẫu tinh dịch	49
Hình 2.3. Hình ảnh tiêu bản tinh trùng với eosin quan sát dưới kính hiển vi.....	51
Hình 2.3. Bộ Kit sản phẩm Halosperm®.....	53
Hình 2.4. Chuẩn bị mẫu đánh giá phân mảnh DNA tinh trùng bằng phương pháp SCD.....	54
Hình 2.5. Hình ảnh các loại tinh trùng với quầng halo khác nhau trên vi trường	56
Hình 2.6. Hệ thống MiOXSYS đo ROS	57
Hình 2.7. Kiểm tra hiệu chuẩn với USB kiểm chuẩn 2 mặt A, B	57
Hình 2.8. Lắp cảm biến vào ổ cắm cảm biến trên máy.....	58
Hình 2.9. Nạp 30 µl mẫu vào cổng chấm mẫu trên cảm biến.....	59

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tình trạng vô sinh hiện đang là một vấn đề rất thường gặp xuất hiện ở các cặp vợ chồng trong độ tuổi sinh sản. Tổ chức Y tế Thế giới đã thống kê có đến một trong sáu người trong độ tuổi sinh sản gặp các khó khăn trong quá trình có con [166]. Nhiều báo cáo đã cho thấy nam giới có liên quan trong hơn một nửa các trường hợp vô sinh, và việc đánh giá chức năng sinh sản nam giới ngày càng được quan tâm nhiều hơn trong thời gian gần đây [79]. Một số nguyên nhân cơ bản bao gồm: bất thường về di truyền, bệnh nhiễm trùng và hệ thống, giãn tĩnh mạch tinh, các stress oxy hoá, và một số yếu tố ảnh hưởng như lối sống, sử dụng rượu bia, thuốc lá...[151]

Cho đến nay, phương pháp chính đánh giá chức năng sinh sản ở nam giới bao gồm tinh dịch đồ; tuy nhiên, bản thân tinh dịch đồ đơn thuần không thể cung cấp đầy đủ thông tin về chất lượng tinh trùng, cũng như chức năng sinh sản của nam giới [39]. Điều này gợi ý khả năng có sự tồn tại các yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng nhưng không thể đánh giá qua xét nghiệm tinh dịch đồ. Trong hai thập kỷ qua, phân mảnh DNA tinh trùng và stress oxy hoá trong tinh dịch đã được thực hiện nhằm đánh giá sâu hơn các rối loạn về chức năng sinh sản nam giới, đặc biệt ở các trường hợp thất bại thai kỳ, thất bại ở các chu kỳ hỗ trợ sinh sản, và các trường hợp vô sinh không rõ nguyên nhân.

Stress oxy hoá là sự mất cân bằng của trạng thái oxy hoá trong cơ thể do các gốc oxy hoá có nồng độ cao hoặc các chất chống oxy hoá có nồng độ quá thấp [23]. Tình trạng này có sự ảnh hưởng không những lên chức năng sinh sản mà còn lên hiệu quả điều trị vô sinh [40], [124]. Đánh giá stress oxy hoá và các gốc oxy hoá tinh trùng sẽ cung cấp thêm các thông tin về chức năng của tinh trùng, và tính toàn vẹn của DNA tinh trùng. Hiện nay, đo cân bằng thể oxy hoá - khử là phương pháp hàng đầu, nhiều ưu điểm, có giá trị lâm sàng cao giúp đánh giá tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch [125]. Theo một phân tích tổng hợp cỡ mẫu lớn ở 2092 bệnh nhân, ngưỡng cân bằng thể oxy hóa – khử là $1,34 \text{ mV}/10^6$ tinh trùng/mL giúp tiên lượng được chất lượng tinh trùng ở nam giới vô sinh. Một số nghiên cứu khác về giá trị trung bình của chỉ số cân bằng thể oxy hoá - khử trong quần thể nam giới vô sinh lại cho kết quả có sự dao động lớn từ giá trị thấp như $0,9 \text{ mV}/10^6$ tinh trùng/mL [95], cho đến giá trị lớn hơn

như ở nghiên cứu của Takashi và cộng sự [152] với 4,02 mV/10⁶ tinh trùng/mL. Rõ ràng, các giá trị trung bình khác nhau ở đây là do các quần thể nghiên cứu có những đặc điểm khác nhau. Tuy vậy, một điểm có thể nhận thấy rõ là đối với các trường hợp nam giới có chức năng sinh sản bình thường thì có tình trạng stress oxy hoá thấp hơn một cách rõ rệt khi so với kết quả từ nhóm nam giới vô sinh. Vì vậy, việc chẩn đoán stress oxy hoá và hỗ trợ điều trị bằng các liệu pháp chống oxy hoá là một trong những chiến lược rất tiềm năng trong điều trị vô sinh, đặc biệt vô sinh nam.

Một số nghiên cứu đã cho thấy liệu pháp chất chống oxy hoá có tác dụng cải thiện kết quả tinh dịch đồ, giảm thiểu sự đứt gãy DNA tinh trùng, và làm tăng khả năng có thai của bệnh nhân, tuy vậy mức độ bằng chứng hiện vẫn chưa đủ mạnh để xác thực [15]. Một số vấn đề khó khăn trong việc áp dụng liệu pháp này là sự chuẩn hoá về phác đồ điều trị. Theo một tổng quan lớn từ Cochrane năm 2022 cho thấy rằng việc bổ sung chất chống oxy hoá ở nam giới hiếm muộn có thể cải thiện tỷ lệ thai sinh sống cho các cặp vợ chồng vô sinh. Vì những sai lệch ngẫu nhiên về phương pháp can thiệp và cỡ mẫu, các tác động của liệu pháp chống oxy hoá ở nam giới lên kết quả có thai cuối cùng vẫn chưa được khẳng định [57]. Trong khi đó, hầu như chưa có nghiên cứu nào trong nước được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng thông qua phương pháp đo cân bằng thể oxy hoá - khử, cũng như chưa có nhiều dữ liệu liên quan đến lợi ích của việc sử dụng chất chống oxy hoá trên đối tượng nam giới vô sinh tại Việt Nam.

Xuất phát từ tính cấp thiết, cũng như tầm quan trọng của việc nâng cao hiệu quả điều trị vô sinh, đặc biệt đối với tình trạng stress oxy hoá, luận án “**Nghiên cứu ảnh hưởng stress oxy hoá lên chức năng sinh sản ở nam giới và kết quả của liệu pháp chống oxy hóa**” được thực hiện với 2 mục tiêu sau:

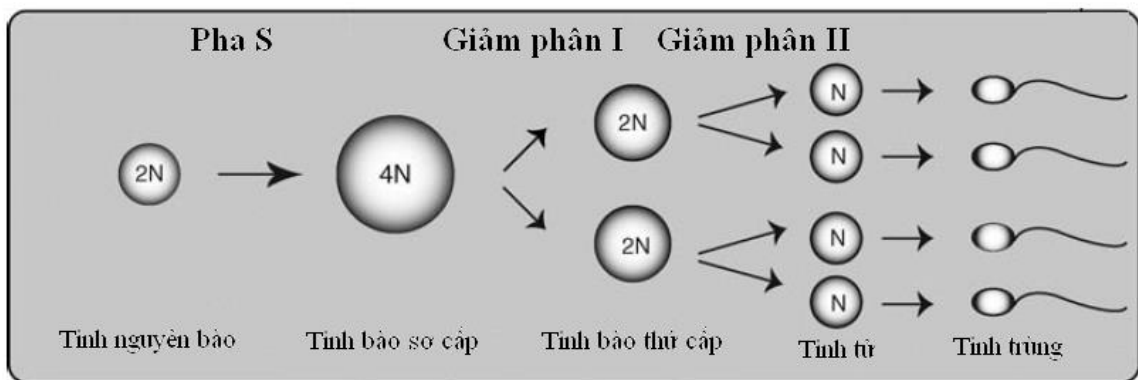
1. *Khảo sát ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng dựa vào kết quả tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng ở các trường hợp vô sinh.*
2. *Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hoá lên một số chỉ số chất lượng tinh trùng.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. SỰ SINH TINH

Sự sinh tinh là một quá trình liên tục và có thể chia làm 3 giai đoạn: sự sản xuất các tế bào mầm (giao tử); sự biệt hoá chức năng để thụ tinh (giảm phân); và sự biệt hoá cấu trúc để hoạt hoá khả năng di động và xâm nhập noãn [5].



Hình 1.1. Sơ đồ các giai đoạn chính trong quá trình sinh tinh [5]

1.1.1. Sự tạo thành giao tử

Trong giai đoạn sớm của sự hình thành phôi, các tế bào mầm nguyên thủy di chuyển đến tuyến sinh dục đang phát triển. Để thực hiện sinh tinh, các tế bào này hiện diện ở các tiểu quản sinh tinh của tinh hoàn. Sau đó các tế bào mầm chưa trưởng thành, còn gọi là các tinh nguyên bào, sẽ phát triển từ các tế bào này thông qua nguyên phân [5].

Trong tiểu quản sinh tinh, có hai loại tế bào sinh dưỡng gồm tế bào cơ trơn, tế bào Sertoli và năm loại tế bào mầm gồm tinh nguyên bào (spermatogonia), tinh bào sơ cấp và tinh bào thứ cấp (spermatocyte), tinh tử (spermatid) và tinh trùng (spermatozoa). Các tinh nguyên bào nằm dọc theo bờ ngoài của các tiểu quản, tiếp xúc với các tế bào hỗ trợ, đó là các tế bào Sertoli. Các tinh nguyên bào vẫn bị bất hoạt cho đến tuổi dậy thì. Từ khi dậy thì về sau, chúng liên tục phân chia bằng sự gián phân để tăng số lượng tế bào và cung cấp nhiều tế bào mới một cách liên tục [5].

1.1.2. Sự biệt hoá về mặt chức năng

Khi các tế bào mầm nguyên thủy di chuyển hoàn toàn đến cầu sinh dục, chúng chiếm vị trí trung tâm của thừng sinh dục, nơi sẽ thành tiểu quản sinh tinh. Tại đây chúng được bao quanh bởi các tế bào Sertoli và một màng đáy. Tế bào sinh dục nam (gonocyte) không phân chia như ở nữ, chúng vẫn ở trạng thái bất hoạt cho đến ngay trước khi dậy thì.

1.1.2.1. Tinh nguyên bào (spermatogonia): các tế bào mầm nguyên thủy phân chia nguyên phân tạo ra các tinh nguyên bào, là các tế bào lưỡng bội nằm ở lớp dưới cùng của tiểu quản, giữa các tế bào Sertoli và màng đáy. Các tinh nguyên bào được chia làm 3 loại: A, trung gian và B. Tinh nguyên bào A được chia nhỏ thành superscripts 0, 1, 2, 3 hay 4. Tinh nguyên bào nguyên phân theo hai kiểu: phân chia ngẫu nhiên các tế bào mầm hay tinh nguyên bào A0 (còn gọi là As) và kiểu phân chia đồng bộ của tinh nguyên bào A1, A2, A3, A4. Loại tinh nguyên bào trung gian và B được kết hợp với các khâu khác trong chu trình sinh tinh [6].

1.1.2.2. Tinh bào sơ cấp (primary spermatocyte): ngay sau lần nguyên phân cuối cùng của tinh nguyên bào B, các tế bào còn gắn kết với nhau qua cầu nối bào tương sẽ nhân đôi bộ NST giống như để chuẩn bị cho nguyên phân một lần nữa. Tuy nhiên, lúc này nó bắt đầu một tiền kỳ giảm phân dài và sau đó là hai lần giảm phân để tạo ra 4 tinh tử đơn bội. Có thể ngay sau khi tổng hợp DNA (preleptotene phase) thì các tinh nguyên bào ở giai đoạn leptotene sẽ tách khỏi màng đáy, các tế bào Sertoli hai bên sẽ áp lại tạo nên phức hợp ranh giới thứ phát nằm giữa tinh nguyên bào và màng đáy [6].

1.1.2.3. Sự giảm phân và tinh bào thứ cấp (secondary spermatocyte): ở giai đoạn hướng cực, các NST tương đồng tách ra, đánh dấu sự kết thúc lần giảm phân I. Nó xảy ra khá nhanh và mỗi tinh bào sơ cấp chia thành 2 tinh bào thứ cấp, mỗi tinh bào thứ cấp lúc này chứa bộ NST đơn bội ở dạng kép ($1n2c$). Thời gian tồn tại của tinh bào thứ cấp ngắn, nó nhanh chóng phân chia lần hai để chia đôi các NST dạng kép thành hai nửa và thành hai tinh tử đơn bội [6]

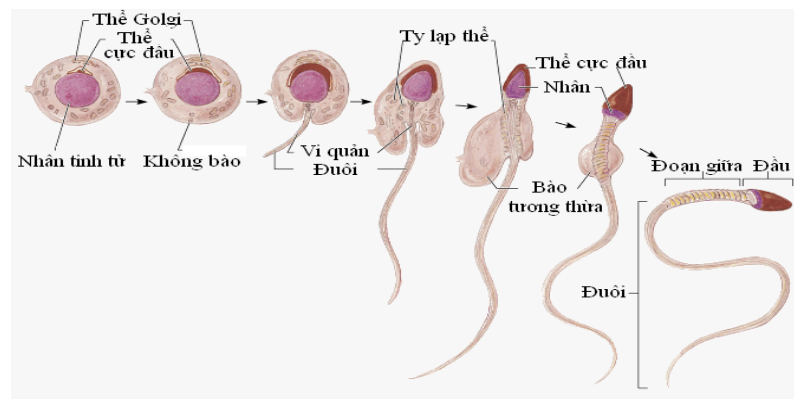
1.1.3. Sự biệt hoá về cấu trúc

Các tinh tử trải qua sự biệt hoá về hình thái hình thành nên tinh trùng trưởng thành (spermiogenesis). Các tinh tử kéo dài ra và phát triển đuôi nhưng vẫn còn gắn với nhau và các tế bào Sertoli bên dưới bởi phương tiện là cầu nối tương bào. Kết quả của quá trình này là hình thành các tinh tử với đơn bội NST có nguồn gốc từ tế bào mẹ [5].

Cuối lần giảm phân thứ hai, tinh tử mới hình thành phối hợp phát triển với một thể hệ tinh tử hình thành trước đó một chu kỳ, nhưng vẫn còn phụ thuộc vào tế bào Sertoli. Sự phát triển từ lúc giảm phân cho đến khi thành tinh trùng tách ra được gọi là sự sinh tinh. Tinh tử thời điểm ban đầu là tế bào tròn trông giống như tế bào bình thường với nhân rõ. Nhưng ngay sau đó có sự thay đổi, rõ nhất là sự cô đặc chromatin nhân. Thể Golgi tăng các hạt chứa dịch. Những hạt này hoà nhập vào nhau tạo nên một túi acrosome duy nhất. Rồi acrosome trải rộng ra bao quanh lấy bề mặt nhân [5].

1.1.4. Sự giải phóng tinh trùng

Bước đầu tiên để giải phóng tinh trùng là phá vỡ phức hợp ống túi, có chức năng như một cái neo giữ tinh tử trong giai đoạn cuối phát triển. Việc tách phức hợp này cũng giúp loại đi một tỷ lệ lớn bào tương của tinh tử (đến 70%). Phần bào tương còn lại của tinh tử vẫn gắn ở cổ tinh trùng. Khi tinh trùng di chuyển vào lòng tiểu quản, khối bào tương này không thay đổi theo tạo thành một dải bào tương mảnh dính giữa khối bào tương với tinh trùng và càng lúc càng dài ra. Các tinh trùng cuối cùng đến được mào tinh, một ống xoắn nằm trong tinh hoàn, ở đó tinh trùng tiếp tục phát triển hơn nữa đến trưởng thành. Toàn bộ quá trình mất khoảng 64 ngày [6].



Hình 1.2. Sự biến đổi tinh tử thành tinh trùng [5]

1.1.5. Khả năng sinh tinh

Tinh trùng đầu tiên được tạo ra từ tinh hoàn vào thời điểm dậy thì. Lúc này sự sản xuất androgen vẫn còn thấp hơn mức bình thường ở người trưởng thành. Tốc độ sản xuất tinh trùng ở mỗi tinh hoàn tăng lên theo độ lớn lên của tinh hoàn. Sự sinh tinh ở nam giới kéo dài liên tục suốt cuộc đời [5].

1.1.6 Nội tiết sinh sản nam giới

Chức năng thứ hai của tinh hoàn, bên cạnh sản xuất giao tử, là sản xuất các hormon sinh dục. Mô tế bào giữa các tiểu quản chịu trách nhiệm sản xuất các hormon, androgen tinh hoàn. Mô liên kết này chứa các tế bào khe, được gọi là tế bào Leydig.

1.1.6.1 Sự sản xuất androgen

Hormon tinh hoàn quan trọng nhất là các steroids androgen, trong đó testosterone đóng vai trò quan trọng nhất, tiếp theo là androstenedione. Tinh hoàn cũng sản xuất một lượng nhỏ estrogen. Cả tinh hoàn và buồng trứng đều sản xuất estrogen và androgen. Tuy nhiên, tinh hoàn ưu thế sản xuất androgen và buồng trứng ưu thế sản xuất estrogen. Testosterone được sản xuất bởi các tế bào Leydig.

Trong bào tương, testosterone được kết hợp với một protein kết hợp androgen (ABP) đặc biệt được chế tiết bởi tế bào Sertoli. Nồng độ testosterone trong huyết thanh ở nam giới trưởng thành từ 12 – 30 nmol/L (ở phụ nữ trưởng thành là 0,5 – 2 nmol/L). Nồng độ testosterone trong nước tiểu thay đổi giữa 100 đến 330 nmol/L/24 giờ (độ tuổi 20-40) [4] [5].

1.1.6.2. Chức năng của androgen

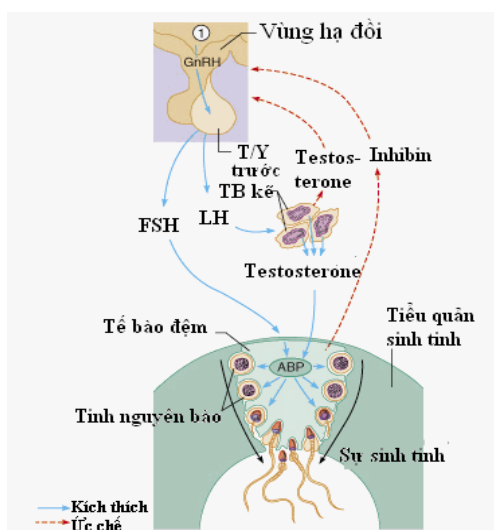
Androgen chịu trách nhiệm trong một số quá trình khác nhau [4]:

- Kích thích sự sinh tinh.
- Khởi phát và duy trì các đặc tính sinh dục nam thứ phát từ lúc bắt đầu dậy thì.
- Kích thích sự phát triển đường sinh sản nam và duy trì hoạt động co giãn và chế tiết của nó.
- Duy trì biểu mô mầm của các tiểu quản trong tinh hoàn cùng với FSH.
- Hồi tác âm tính với thùy trước tuyến yên để ức chế giải phóng LH.
- Kích thích sự tổng hợp protein cho sự lớn lên và phát triển hệ xương.
- Ảnh hưởng đến hành vi tính dục và sự hoạt bát, năng nổ.

1.1.6.3. Điều hoà chức năng tinh hoàn

Ở nam giới, LH kích thích tế bào Leydig trong mô kẽ tăng tiết androgen, vì thế nó còn được gọi là hormon kích thích tế bào khe. Tầm quan trọng của FSH chưa rõ. Nó chỉ có ảnh hưởng rất ít hoặc không trực tiếp lên sự sản xuất androgen. Do có các thụ thể FSH trên các tế bào Sertoli, nên người ta cho rằng FSH kích thích sự sinh tinh trùng, nhưng sự ảnh hưởng này không vượt quá giai đoạn tinh bào sơ cấp. Sự sinh tinh hoàn chỉnh cần có testosterone.

Sự sản xuất LH và FSH được điều hoà bởi hormon giải phóng gonadotropin, sản xuất và chế tiết bởi vùng dưới đồi. Tất cả các hoạt động này được kiểm soát chặt chẽ bởi cơ chế hồi tác [4]



Hình 1.3. Ảnh hưởng của nội tiết lên sự sinh tinh [4]

1.2. CHỨC NĂNG SINH SẢN CỦA NAM GIỚI

1.2.1. Đánh giá chức năng tình dục ở nam giới

Rối loạn chức năng tình dục ở nam giới là vấn đề rất được quan tâm bởi sự ảnh hưởng tiêu cực của nó đến chất lượng cuộc sống cũng như hạnh phúc gia đình và lứa đôi. Khác với rối loạn chức năng tình dục ở phụ nữ, rối loạn chức năng tình dục ở nam giới có liên quan đến hai tình trạng khá cụ thể là rối loạn chức năng cương dương và xuất tinh sớm.

Hai bộ câu hỏi đã được chuẩn hóa thường được sử dụng là: Chỉ số quốc tế về chức năng cương dương (International Index of Erectile Function – IIEF) và Bộ câu hỏi chẩn đoán xuất tinh sớm (Premature Ejaculation Diagnostic tool – PEDT [7]).

1.2.1.1 Chỉ số quốc tế về chức năng cương dương (*International Index of Erectile Function - IIEF*)

Rối loạn cương dương đặc trưng bởi tình trạng dương vật không cương hoặc không có khả năng duy trì sự cương cứng đủ để quan hệ tình dục hoặc cả hai. Bộ câu hỏi Chỉ số quốc tế về chức năng cương dương (*International Index of Erectile Function – IIEF*) gồm 15 câu hỏi đề cập đến năm vấn đề: chức năng cương của dương vật (6 câu), sự thỏa mãn khi quan hệ tình dục (3 câu), cực khoái (2 câu), sự ham muốn tình dục (2 câu) và sự thỏa mãn tình dục toàn diện (2 câu). Mỗi mục đưa ra 5 câu trả lời từ 1-5 theo mức độ tốt dần, có điểm 0 ở một số câu hỏi dành cho người không hoạt động tình dục trong khoảng thời gian đánh giá khoảng 4 tuần. Tổng điểm của IIEF chính là tổng điểm của 5 mục, từ 5 đến 75 điểm. Trong đó, chỉ có lĩnh vực về chức năng cương dương xây dựng được ngưỡng để chẩn đoán rối loạn cương khi số điểm ≤ 25 với các mức độ rối loạn khác nhau: mức độ nhẹ (22-25), nhẹ - trung bình (17-21), trung bình (11-16) và mức độ nặng (≤ 10) [7].

Bộ câu hỏi IIEF được xem là “tiêu chuẩn vàng” nhằm đo lường và đánh giá mức độ rối loạn cương dương, được sử dụng rất rộng rãi trên toàn thế giới, đặc biệt là trong các thử nghiệm lâm sàng đa quốc gia [63].

1.2.1.2. Bộ câu hỏi chẩn đoán xuất tinh sớm (*Premature Ejaculation Diagnostic tool – PEDT*)

Xuất tinh sớm được định nghĩa là tình trạng xuất tinh xảy ra sớm hơn sự mong muốn của bản thân, ngay sau khi dương vật thâm nhập vào âm đạo và có sự kéo dài dai dẳng, lặp lại suốt đời. Bảng câu hỏi PEDT gồm 5 câu hỏi đánh giá về khả năng kiểm soát xuất tinh, sự kích thích tối thiểu, mức độ ảnh hưởng của xuất tinh sớm đến bản thân và đến mối quan hệ với bạn tình. Ngưỡng chẩn đoán xuất tinh sớm cũng đã được xác định dựa vào tổng điểm của 5 câu hỏi, với số điểm 9-10 được cho là có thể mắc xuất tinh sớm và chắc chắn xuất tinh sớm nếu số điểm ≥ 11 [8].

Tóm lại, quá trình đánh giá chức năng tình dục nam cần phải tiến hành khai thác tiền sử bệnh lý, thăm khám lâm sàng và các phương pháp thăm dò cận lâm sàng cần thiết nhằm hỗ trợ làm rõ chẩn đoán. Cả hai bộ câu hỏi trên hướng tới việc đánh giá rối loạn chức năng tình dục ở nam giới với nhiều ưu điểm: ngắn gọn, dễ hiểu, dễ

chấp nhận, đạt tiêu chuẩn của trắc nghiệm tâm lý và đã dần được củng cố mạnh mẽ về độ tin cậy cũng như hiệu lực đo lường nhờ vào quá trình phát triển nhiều phiên bản mới với nhiều ngôn ngữ ở các vùng lãnh thổ khác nhau trên toàn cầu [7].

1.2.2. Tinh dịch đồ

Tinh dịch đồ là một xét nghiệm nhằm đánh giá chất lượng tinh trùng thông qua các chỉ số mật độ, thể tích, độ di động, hình dạng tinh trùng bình thường... Dựa vào kết quả của tinh dịch đồ, chúng ta có thể đánh giá một cách tổng quát về khả năng sinh sản ở nam giới. Hiện nay, các trung tâm trên thế giới đều sử dụng tiêu chuẩn theo Tổ chức Y tế Thế giới về phân tích tinh dịch đồ.

Tinh dịch sau khi hoá lỏng sẽ được đánh giá tính chất vật lý như độ nhớt, độ trong suốt, màu sắc. Thời gian ly giải ở điều kiện nhiệt độ 37°C là 15 phút, nếu thời gian này trên 60 phút là bất thường. Tinh dịch đồ có thể được phân tích bằng phương pháp thủ công theo WHO 2021 (**bảng 1.1**) [165], hoặc với sự hỗ trợ của máy phân tích tinh trùng tự động (CASA - Computer - aided sperm analysis).

Bảng 1.1. Kết quả phân tích tinh dịch đồ theo WHO 2021

Chỉ số	WHO, 2021
Thể tích tinh dịch	$\geq 1,5$ ml
pH	$\geq 7,2$
Mật độ tinh trùng (triệu tinh trùng/mL)	≥ 15
Tổng số tinh trùng (triệu tinh trùng)	≥ 39
Độ di động (%) PR (Tiến tới) NP (Không tiến tới)	$PR \geq 32$ hay $PR + NP \geq 40$
Tỷ lệ sống (%)	≥ 58
Hình dạng tinh trùng bình thường (%)	≥ 4
Tế bào lạ (triệu tế bào/mL)	≥ 1

Các chỉ số được đánh giá bao gồm mật độ, tỷ lệ di động và hình thái có thể giúp phân loại nam giới có chức năng sinh sản bình thường hoặc bất thường. Cần hiểu

rằng các ngưỡng giá trị bình thường của các chỉ số trong tinh dịch đồ không đại diện chung cho quần thể, và không thể khẳng định được liệu có thể mang thai không thông qua kết quả tinh dịch đồ. Một số bệnh nhân vẫn có thể có thai mặc dù có rối loạn ở tinh dịch đồ, và ngược lại, nhiều trường hợp có kết quả tinh dịch đồ bình thường nhưng vẫn không thể có thai [165].

1.2.3. Đánh giá sự toàn vẹn DNA của tinh trùng

Liên quan giữa sự đứt gãy DNA tinh trùng (SDF - sperm DNA fragmentation) và suy giảm chức năng sinh sản, những bước tiến mới của sinh học phân tử và SDF đã thúc đẩy nhiều nghiên cứu trên lĩnh vực này. Hiện nay, có tám phương pháp để đánh giá SDF trên lâm sàng và được chia thành 2 loại: trực tiếp và gián tiếp. Trong khi các phương pháp trực tiếp đo các mảnh DNA đứt gãy bằng đầu dò hoặc thuốc nhuộm, thì các phương pháp gián tiếp đánh giá khả năng bị đứt gãy của DNA [96]. Trong các xét nghiệm SDF, xét nghiệm cấu trúc nhiễm sắc thể tinh trùng (sperm chromatin structure assay – SCSA), terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP (TUNEL), phân tán chất nhiễm sắc tinh trùng (sperm chromatin dispersion – SCD) và điện di tế bào trên gel (single cell gel electrophoresis assay – Comet) đã được chuẩn hoá và sử dụng rộng rãi [13].

Mặc dù kết quả từ các xét nghiệm SDF không thể so sánh với nhau bởi vì đặc điểm đánh giá của từng xét nghiệm là khác nhau, nhưng các xét nghiệm trên đều có khả năng đánh giá được mức độ và nguồn gốc tổn thương DNA tinh trùng. Sự chuẩn hoá cho các xét nghiệm SDF ở các phòng thí nghiệm chuyên sâu về nội tiết nam học chất lượng cao là rất cần thiết để đạt hiệu quả cần thiết trong điều trị lâm sàng [13].

Cho đến nay, các thử nghiệm độ bền vững DNA tinh trùng vẫn chưa được áp dụng một cách thường quy trên lâm sàng. Các khuyến cáo ứng dụng các phương pháp này chủ yếu giới hạn đối với những đối tượng như vô sinh không rõ nguyên nhân, hoặc sảy thai liên tiếp [60].

Một phân tích tổng hợp trên 28 nghiên cứu đã kết luận rằng ngưỡng 20% có thể được sử dụng đối với các phương pháp SCSA, TUNEL, SCD để phân biệt nhóm nam giới có chức năng sinh sản bình thường và bất thường (độ nhạy: 79%, độ đặc hiệu:

86%; AUC: 0,844) [139]. Tuy vậy, giữa các nghiên cứu vẫn có sự dao động nhỏ về ngưỡng chẩn đoán này. Gần đây, vào năm 2020, Hội Nội học Châu Âu (EAU - European Association of Urology) cho rằng xét nghiệm SDF cần được thực hiện ở các trường hợp sau: cặp vợ chồng vô sinh mắc sảy thai liên tiếp ở các chu kỳ tự nhiên, thụ tinh nhân tạo (intrauterine insemination-IUI) và thụ tinh trong ống nghiệm (IVF/ICSI); và nam giới vô sinh không rõ nguyên nhân. Hơn nữa, nam giới vô sinh vô căn có SDF cao và đã thất bại với điều trị IUI, IVF hoặc ICSI, phẫu thuật trích tinh trước đó cần phải được áp dụng ICSI để tăng hiệu quả điều trị. EAU cũng khẳng định mối liên quan giữa SDF và giãn tĩnh mạch tinh, và hiệu quả của việc phẫu thuật búi tĩnh mạch giãn nhằm cải thiện chất lượng tinh trùng [136].

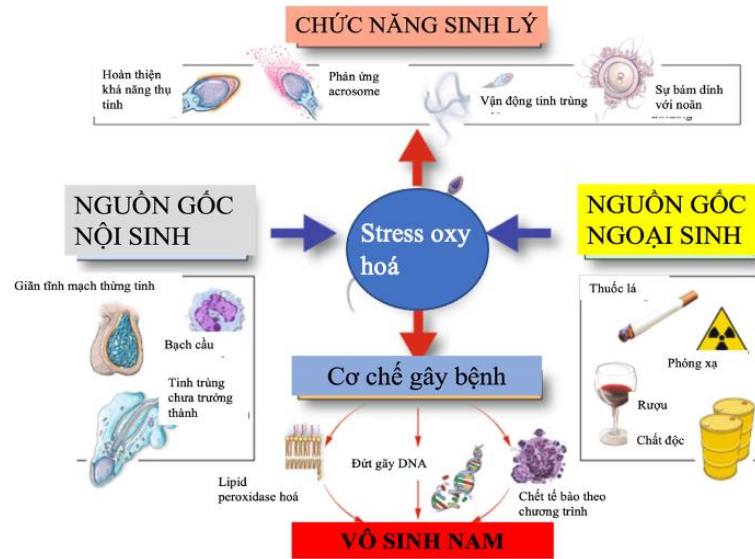
1.3. TỔNG QUAN VỀ STRESS OXY HOÁ

1.3.1. Định nghĩa

Stress oxy hoá là một tình trạng mất cân bằng giữa các gốc oxy hoá và hàng rào sinh học của các chất chống oxy hoá nhằm đảm bảo hoạt động sinh lý của cơ thể. Dưới một số điều kiện bất thường, sự sản xuất các gốc oxy hoá (Reactive-oxygen species - ROS) quá mức sẽ vượt qua khả năng bảo vệ của hàng rào chống oxy hoá, điều này sẽ dẫn đến stress oxy hoá.

Các số liệu từ nghiên cứu gần đây cho thấy rằng stress oxy hoá là một nguyên nhân gây nên các rối loạn về mặt phân tử của tinh trùng [118]. 30 đến 40% nam giới vô sinh có chỉ số ROS cao trong tinh dịch. Tinh trùng là một tế bào rất nhạy cảm với tác động của stress oxy hoá. Một số trường hợp, các tác động của stress oxy hoá có thể được điều chỉnh. Tuy nhiên, đối với tinh trùng thì khả năng này là không thể do tinh trùng không có hệ thống sửa chữa enzyme trong bào tương một cách đầy đủ. Điều này khiến cho tinh trùng trở nên rất dễ tổn thương dưới các ảnh hưởng của stress oxy hoá. Bên cạnh đó, màng tế bào tinh trùng được cấu tạo từ các acid béo không no, vì vậy càng tỏ ra nhạy cảm với sự oxy hoá, và lipid peroxidase hoá (Lipid peroxidation - LPO). Hậu quả là tinh trùng sẽ bị suy giảm chức năng sinh lý, rối loạn hoạt động ty thể tinh trùng, giảm tỷ lệ sống sót, tăng rối loạn hình thái, giảm tỷ lệ di động [23], [118].

Gần đây, stress oxy hoá là một vấn đề được tập trung nghiên cứu bởi vì tình trạng này được nhận thấy có nhiều ảnh hưởng tiêu cực lên chức năng sinh sản, và các nhóm nghiên cứu đã xác định được điểm cắt của đo cân bằng thế oxy hoá-khử (oxidation-reduction potential - ORP) nhằm tiên lượng kết quả tinh dịch đồ bình thường hoặc bất thường [19].



Hình 1.4. Nguồn gốc stress oxy hoá và cơ chế tác động [121]

1.3.2. Nguồn gốc stress oxy hoá

ROS là gốc oxy hoá được tạo ra từ hoạt động chuyển hoá trong tế bào. Các gốc oxy hoá là các phân tử chưa trung hoà về điện tích. Các ROS phổ biến trong điều kiện thông thường bao gồm superoxide anion (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2) và các gốc hydroxyl (OH^-) đều là những gốc oxy hoá rất mạnh và được tìm thấy với nồng độ thấp ở đường sinh dục của cả nam và nữ giới [134]. Bởi vì nồng độ các gốc tự do tăng lên, nên khả năng chống sự oxy hoá của tế bào trở nên quá tải và không đủ để loại bỏ các chất chuyển hoá từ quá trình oxy hoá quá mức, dẫn đến trạng thái stress oxy hoá (Oxidative stress-OS) [17]. Tóm lại, tình trạng stress oxy hoá thực chất là sự mất cân bằng của các gốc tự do so với khả năng chống lại tình trạng oxy hoá của tế bào.

1.3.2.1. Nguồn gốc các gốc oxy hoá ở tinh trùng

ATP (Adenosine triphosphate) được tinh trùng sử dụng là nguồn năng lượng hoạt động có nguồn gốc từ quá trình phosphoryl và glycolysis từ ty thể. Với điều kiện

sinh lý, nguồn ROS chủ yếu là sự đào thải của oxygen dạng hoạt hoá từ ty thể trong suốt quá trình hô hấp tế bào. ROS được duy trì cân bằng nhằm đảm bảo quá trình hoạt động bình thường của tinh trùng. Tuy vậy, trong trường hợp tăng sản xuất quá mức, ROS sẽ gây phá huỷ màng lipid, các protein và DNA [163].

Dưới tác động OS, ROS cao có thể dễ dàng kết hợp với các phân tử và gây tổn thương tế bào [163]. Màng bào tương tinh trùng chứa một lượng lớn các acid béo không bão hoà (Polyunsaturated fatty acids - PUFAs), rất dễ dẫn đến tăng ROS nếu chịu stress oxy hoá. Các liên kết đôi ở màng lipid rất dễ bị oxy hoá bởi ROS, từ đó làm giảm độ trong suốt của màng. Bên cạnh màng tế bào, OS còn ảnh hưởng đến cấu trúc protein và acid nucleic trong nhân tế bào tinh trùng.

Bên cạnh các gốc oxy hoá trong tinh dịch, tinh tương còn tồn tại các hàng rào nhằm trung hoà và bảo vệ các tác động bất lợi của các gốc oxy hoá. Trong trường hợp sự sản xuất các gốc oxy hoá vượt mức bảo vệ của các chất chống oxy hoá, các tác động bất lợi trên tinh trùng sẽ diễn ra [163].

Quá trình sinh tinh rối loạn dẫn đến hình thành tinh trùng chưa trưởng thành, có hình dáng bất thường, và tăng ROS trong mẫu tinh dịch. Một nguồn sản xuất ROS chính khác là bạch cầu, xuất hiện ở các trường hợp nhiễm trùng. Nồng độ ROS cao được sản xuất bởi bạch cầu đóng vai trò quan trọng như là hàng rào bảo vệ chống lại các tác nhân nhiễm trùng. Sự tăng hoạt động các cytokines viêm, như interleukin (IL-8), và giảm hoạt động của superoxide dismutase (SOD) có thể dẫn đến tăng hoạt động hô hấp tế bào và hệ quả là tăng ROS. Tổ chức Y tế Thế giới (World Health Organization - WHO) đã khuyến cáo rằng bạch cầu trên 1 triệu trong mẫu tinh dịch sẽ dẫn đến các ảnh hưởng xấu đến chất lượng tinh trùng [165]. Trong những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã tập trung tìm mối liên hệ giữa bạch cầu trong tinh dịch với chất lượng tinh trùng. Nhiều báo cáo đã nhận thấy mối liên hệ giữa giảm chất lượng tinh trùng với sự tăng nồng độ ROS, IL-6 [104].

1.3.2.2. Các bệnh lý gây nên tình trạng stress oxy hoá

Giãn tĩnh mạch tinh

Giãn tĩnh mạch tinh là nguyên nhân chính gây nên vô sinh ở nam giới. Stress oxy hoá là cơ chế ảnh hưởng chính của bệnh lý này. Sự tăng ROS và suy giảm nồng

độ các chất chống oxy hoá thường hiện diện ở các trường hợp giãn tĩnh mạch tinh. Ở nam giới giãn tĩnh mạch tinh, ROS được sản xuất từ 3 loại tế bào dưới điều kiện của nhiệt độ cao, và thiếu oxy. Các tế bào này bao gồm tế bào mào tinh, tế bào nội mô ở các đám rối giãn tĩnh mạch, và tế bào tinh hoàn như tế bào mầm, tế bào Leydig, đại thực bào, và tế bào biểu mô. Ở ty thể, stress do nhiệt độ cao và thiếu oxy có thể kích hoạt trực tiếp lên kênh vận chuyển điện tử và gây tăng sản xuất ROS [40]. Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm đo mức độ stress oxy hoá trong tinh dịch của nam giới vô sinh có giãn tĩnh mạch tinh và so với những nam giới vô sinh chưa rõ nguyên nhân. Kết quả là đối tượng có giãn tĩnh mạch tinh thì kết quả nồng độ các gốc oxy hoá cao hơn rõ rệt.

Ung thư tinh hoàn

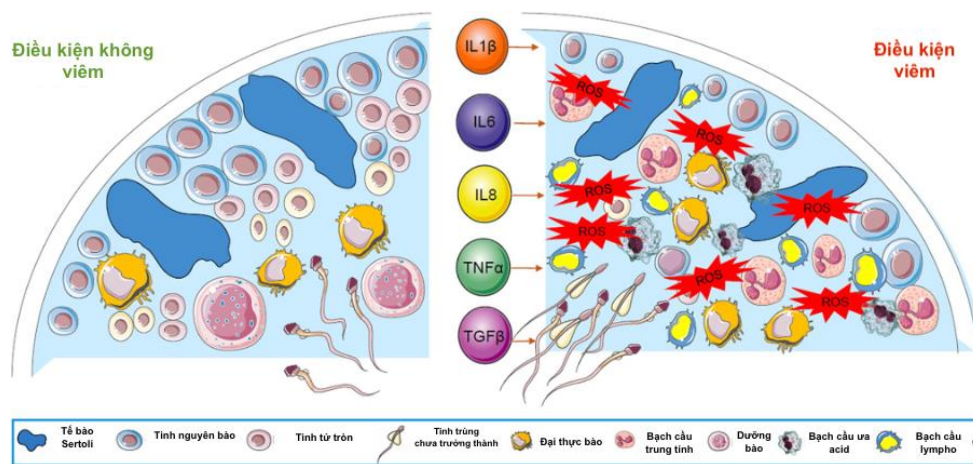
Ung thư tinh hoàn được nhận thấy có liên quan với sự oxy hoá tạo nên môi trường bất lợi trong tinh hoàn làm thay đổi các chỉ số của tinh trùng. Sự rối loạn sinh tổng hợp tinh trùng và sụt giảm tổng số lượng tinh trùng đã được chứng minh xuất hiện ở các trường hợp khối u ác tính ở tinh hoàn [124]. Sposito và cộng sự cũng chỉ rõ rằng nồng độ gốc oxy hoá và lipid peroxidase trong tinh tương tăng lên ở các trường hợp ung thư tinh hoàn khi so với nhóm chứng khoẻ mạnh [150]. Sự đứt gãy DNA và khả năng bám dính của tinh trùng đã bị rối loạn rất nặng nề ngay cả trước khi cắt bỏ tinh hoàn [97]. Ngoài ra, rõ ràng là quá trình hoá trị và xạ trị cũng tác động rất mạnh mẽ đến tính toàn vẹn của DNA.

Béo phì

Béo phì và tình trạng viêm mạn tính tăng tỷ lệ chuyển hoá và tăng sản xuất ROS trong mô tinh hoàn và tinh trùng. OS trong tinh hoàn và tinh trùng tương quan thuận với chỉ số khối cơ thể (Body mass index - BMI) và độ phân mảnh DNA, nhưng tương quan nghịch với tỷ lệ tinh trùng di động và hoạt động của acrosome. Nhiệt độ tối ưu để sinh tổng hợp tinh trùng là 34 - 35°C ở người, và nếu nhiệt độ này tăng lên sẽ ảnh hưởng đến sự sinh tổng hợp tinh trùng. Ở nam giới béo phì, sự tăng sinh mô mỡ quanh bìu sẽ làm tăng nhiệt độ vùng bìu. Vì vậy, nhiệt độ bìu tăng sẽ dẫn đến sản xuất nhiều OS hơn và làm giảm đi chất lượng tinh trùng và tăng đứt gãy DNA [40]. Béo phì thường liên quan đến sự tăng lên các acid béo tự do trong huyết thanh, và trong đó

các acid béo không bão hoà thường rất nhạy cảm với các tác động của stress oxy hoá, và vì vậy tỷ lệ enzym chuyển hoá superoxide (Superoxide dismutase - SOD) sẽ giảm đi và MDA sẽ tăng lên dưới sự peroxidase hoá. Tình trạng hội chứng chuyển hoá đặc biệt ở những người có BMI cao sẽ có những tác động bất lợi lên chất lượng tinh trùng [91]. Sử dụng các chất chống oxy hoá, cải thiện lối sống lành mạnh, tập luyện thể dục và chế độ ăn hợp lý nhằm kiểm soát cân nặng và BMI có thể giúp giảm OS và cải thiện chất lượng tinh trùng [92].

Stress oxy hoá và phản ứng viêm



Hình 1.5. Sự sinh tổng hợp tinh trùng trong điều kiện nhiễm trùng [40]

Nhiều bằng chứng cho thấy mối quan hệ giữa phản ứng viêm và stress oxy hoá là rất rõ ràng. Tinh dịch của những nam giới vô sinh có ROS cao bên cạnh nồng độ cao các yếu tố viêm và cytokines. Mặc dù giả thuyết các yếu tố bên ngoài như vi khuẩn có khả năng sản xuất ROS, nhưng bạch cầu vẫn là nguồn gốc chính của ROS trong tinh dịch. Có nhiều cơ chế trực tiếp và gián tiếp dẫn đến tăng ROS bởi các bạch cầu. Bạch cầu thường tăng ROS một cách gián tiếp thông qua tăng các cytokine tiền viêm. Các protein này kích hoạt hệ thống xanthine oxidase, làm tăng ROS và dẫn đến stress oxy hoá [40].

Rối loạn cương

Bình thường, chức năng cương dương thường dựa trên cơ chế co thắt tĩnh mạch liên quan đến dòng vào áp lực cao qua động mạch giãn và dòng ra áp lực thấp qua tĩnh mạch co hẹp, được điều chỉnh phụ thuộc sự hiện diện của NO để gây giãn cơ trơn trong thể hang [124]. Rối loạn chức năng cương liên quan đến lão hoá được cho

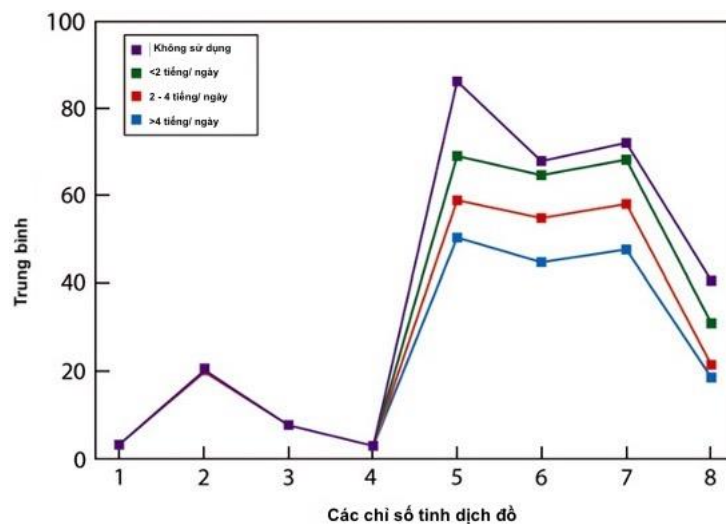
rằng bởi tác động trung gian của stress oxy hoá, hoặc do suy giảm chức năng giãn cơ trơn, cũng như các tổn thương trên tế bào nội mô và cơ trơn.

1.3.3. Các yếu tố nguy cơ của stress oxy hoá

1.3.3.1. Các yếu tố ngoại cảnh

Sự bức xạ

Những nghiên cứu trong ống nghiệm đã chứng minh rằng sự bức xạ các điện từ làm tăng sự sản xuất ROS và đứt gãy DNA trong tinh trùng ở nam giới, và làm giảm khả năng di động và tỷ lệ sống của tinh trùng cũng như mật độ tinh trùng phụ thuộc vào thời gian phơi nhiễm với sự bức xạ [56]. Các đợt sóng vô tuyến điện trường có thể ảnh hưởng tiêu cực đến các điện tích dọc theo màng tế bào, và phá vỡ cấu trúc bình thường của tế bào và gây rối loạn chức năng tế bào.



Biểu đồ 1.1. Mối liên quan giữa đặc điểm các chỉ số tinh dịch đồ so với thời gian sử dụng điện thoại (1 = thể tích, 2 = thời gian ly giải, 3 = pH, 4 = độ nhớt, 5 = số lượng tinh trùng, 6 = độ di động, 7 = tỷ lệ sống, 8 = tỷ lệ hình thái bình thường) [14]

Chất độc hoá học

Các chất độc hoá học được đào thải từ các vật liệu và sản phẩm công nghiệp sau khi nhiễm vào cơ thể người có thể làm tăng ROS trong tinh trùng, ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng tinh trùng. Phthalates, là một hợp chất được tìm thấy rất nhiều trong các đồ vật bằng nhựa dùng trong gia đình và công nghiệp. Chúng gây ảnh hưởng bất lợi đến quá trình sinh tổng hợp tinh trùng và dẫn đến rối loạn hoạt động ty thể, gây

chết tinh trùng và hoại thư tinh hoàn [84]. Hơn nữa, những người thường xuyên tiếp xúc với các chất độc dạng kim loại như cadmium, chì, đồng đều có các chỉ số của tinh dịch đồ suy giảm [83].

Thuốc lá

Thuốc lá chứa hơn 4000 các hợp chất hoá học bao gồm alkaloids, nitrosamine, và các phân tử hoá học khác. Một số hợp chất có khả năng làm mất sự cân bằng giữa ROS và chất chống oxy hoá trong tinh dịch của những người hút thuốc lá. Sự mất cân bằng này sẽ dẫn đến ảnh hưởng chất lượng tinh trùng. Hút thuốc lá có thể làm tăng lượng bạch cầu trong tinh dịch lên đến 48% và tăng nồng độ ROS lên 107% [135]. Hơn nữa, những người hút thuốc lá có nguy cơ giảm các chất chống oxy hoá trong tinh dịch như vitamin E, vitamin C, tạo môi trường nguy cơ với sự sinh tổng hợp tinh trùng. Một nghiên cứu khác đánh giá các chỉ số của tinh dịch đồ ở người hút thuốc với người không hút thuốc nhận thấy rằng sự sinh tổng hợp tinh trùng ở người có hút thuốc lá bị rối loạn nghiêm trọng thể hiện ở sự suy giảm các chỉ số tinh dịch đồ, tăng đứt gãy DNA tinh trùng và suy giảm nồng độ kẽm trong tinh dịch (là một chất chống oxy hoá) [114].

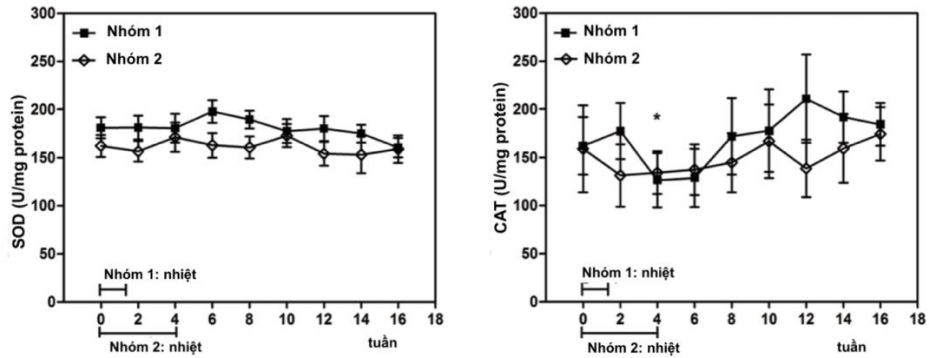
Sử dụng đồ uống có cồn

Rượu bia được xác định là yếu tố kích thích sự sản xuất: Khi acetaldehyde là một hợp chất tạo ra từ quá trình chuyển hoá ethanol liên kết với proteins và lipids, ROS sẽ được tạo ra. Điều này sẽ dẫn đến những tổn thương ở mức phân tử đối với các proteins, lipids và DNA [38]. Một phân tích tổng quan năm 2017 cho thấy sự sử dụng rượu quá mức sẽ gây những rối loạn về mặt số lượng và hình thái tinh trùng, tuy nhiên điều này không được quan sát rõ ràng nếu chỉ sử dụng rượu ở mức độ trung bình [123].

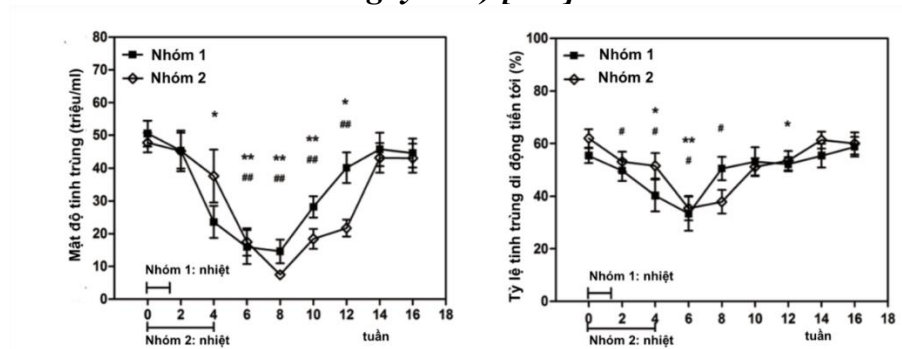
Tăng nhiệt độ vùng bìu

Tăng nhiệt độ vùng bìu được nhận thấy gây nên tác động tiêu cực lên tính ổn định của màng tế bào tinh trùng và làm giảm khả năng thụ tinh tinh trùng. Nghiên cứu đối chứng ngẫu nhiên năm 2015 đã kết luận rằng: SOD sẽ bị giảm sau 4 tuần kích thích nhiệt liên tục lên tinh hoàn. Các chỉ số khác của stress oxy hoá như lipid peroxidase, MDA tăng rõ rệt nếu tinh hoàn chịu tác động của nhiệt độ cao trong thời gian ngắn [122]. Mặc dù tổng lượng các chất chống oxy hoá trong tinh dịch chưa nhận thấy sự sụt giảm rõ rệt, nhưng nghiên cứu lại nhận thấy tác động ngắn ngủi của

hiệt độ cao vùng bìu thường sẽ gây ra những ảnh hưởng tiêu cực lên chức năng của tinh trùng nặng nề hơn là tác động một cách liên tục.

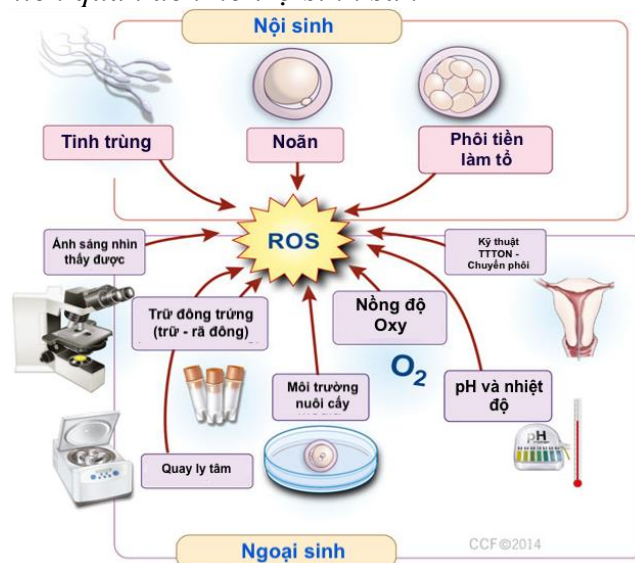


Biểu đồ 1.2. Sự thay đổi của SOD và TAC sau khi kích thích nhiệt vùng bìu (nhóm 1: kích thích liên tục 1 lần/ngày trong 10 ngày; nhóm 2: kích thích mỗi 3 ngày/ lần) [122]



Biểu đồ 1.3. Sự thay đổi của mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới sau kích thích nhiệt vùng bìu [122]

1.3.3.2. Các yếu tố liên quan đến hỗ trợ sinh sản



Hình 1.6. Liên quan giữa sản xuất gốc oxy hoá và kỹ thuật hỗ trợ sinh sản [26].

Trữ lạnh

Trữ lạnh là quá trình mà tế bào và mô được bảo quản bằng cách hạ nhiệt độ xuống dưới -196°C [26]. Mặc dù, các kỹ thuật được tối ưu hoá để cải thiện chất lượng tế bào, nhưng việc trữ lạnh dường như là một stress có thể ảnh hưởng đến cấu trúc và độ bền vững của màng bào tương tinh trùng (chủ yếu cấu tạo từ các phospholipids và cholesterol) [26].

Nồng độ 8-OHdG (một chất chỉ điểm của stress oxy hoá) tăng lên khi tinh trùng được trữ lạnh và dẫn đến đứt gãy DNA [26]. Hơn nữa, mối liên quan của trữ lạnh với tỷ lệ di động và tỷ lệ tinh trùng sống của nam giới vô sinh cũng được khảo sát. Kết quả đều cho thấy trữ lạnh có thể làm giảm các chỉ số của tinh dịch đồ. Trữ lạnh tinh trùng rõ ràng có mối liên quan đối với đứt gãy DNA tinh trùng và các tổn thương DNA do quá trình oxy hoá.

Ánh sáng nhìn thấy

Ánh sáng nhìn thấy hay còn gọi là quang phổ khả kiến, là một phần của điện từ quang phổ có thể thấy được bằng mắt thường, có bước sóng trong khoảng 400 - 700 nm. Trong các phòng thí nghiệm IVF, ánh sáng được phát ra từ kính hiển vi, ánh sáng huỳnh quang và ánh sáng mặt trời gián tiếp. Khi các giao tử và phôi phơi nhiễm với ánh sáng, nó được hấp thụ bởi các hạt sắc tố nội bào, bao gồm hệ thống Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH oxidase) chứa các flavoproteins và cytochrome b [26]. Các tế bào sắc tố này rất nhạy cảm với các điện tử - chúng sẽ hấp thụ ánh sáng và truyền năng lượng đến các phân tử oxygen gần đó. Bước sóng tím - xanh (445 - 455 nm) được tạo từ các kính hiển vi huỳnh quang đảo ngược có thể gây cảm ứng quang học lên các flavins. Các flavin - oxidase trong ty thể và peroxisome sẽ bị kích thích và dẫn đến sản xuất H_2O_2 ở các tế bào HK (human foreskin keratinocytes).

Các tác động của ánh sáng nhìn thấy lên chất lượng tinh trùng bao gồm tỷ lệ tinh trùng di động và phản ứng cực đầu đã được báo cáo gần đây [26]. Trong nghiên cứu này, tác giả đã chiếu xạ lên tinh trùng trong 3 phút với ánh sáng bước sóng 400 -

800 nm cường độ 40 mW/cm² và nhận thấy sự sản xuất ROS trong suốt quá trình thí nghiệm và xuất hiện sau khi chiếu xạ 1 - 3 phút.

Những năm gần đây, tác động của ánh sáng từ kính hiển vi trong các kỹ thuật IVF đã được quan tâm. Các kính quang học (optical filters) được sử dụng kèm theo nhằm tăng độ tương phản khi quan sát, hạn chế ánh sáng đi từ bên ngoài vào, và loại bỏ đi các tia sáng có bước sóng gây hại như tia cực tím [26].

ROS từ các thao tác trên giao tử

Trong môi trường trong ống nghiệm, các thao tác kỹ thuật nắm giữ giao tử và phối trong suốt quá trình hỗ trợ sinh sản sẽ làm tăng nguy cơ tăng ROS. Ở các chu kỳ thụ tinh trong ống nghiệm, các giao tử được sử dụng để chuẩn bị cho quá trình IVF hoặc ICSI (Intra-Cytoplasmic Sperm Injection). Những tinh trùng được lựa chọn và trứng sẽ được cho thụ tinh ở đĩa petri và kiểm tra khả năng thụ tinh sau 16 - 20 giờ. Trong thời gian này, ROS sẽ được tạo ra từ noãn bào, các tế bào hạt và tinh trùng trong môi trường nuôi cấy.

Đối với ICSI, trong những trường hợp tinh dịch đồ kết quả rất kém, việc lựa chọn tinh trùng để cấy được quyết định trong điều kiện rất hạn chế bởi vì số lượng các tinh trùng bình thường có di động rất ít. Vì vậy, khả năng tinh trùng được lựa chọn có ROS cao và có đứt gãy DNA là cao hơn bình thường [26]. Vì vậy, có thể nói việc lựa chọn tinh trùng có hình thái bình thường và có di động để thực hiện kỹ thuật không đồng nghĩa là tinh trùng đó không có những tổn thương về mặt DNA.

pH và nhiệt độ

Trong IVF, môi trường thường được hay sử dụng là natri bicarbonate [26]. Bên cạnh đó, môi trường HEPES cũng là một lựa chọn tốt hiệu quả và an toàn để trữ tinh trùng khi so với các loại khác. CO₂ và pH có mối quan hệ đối nghịch nhau: do đó, để duy trì ổn định thì điều này rất khó khăn bởi vì những thao tác mở đóng môi trường ủ để quan sát tế bào.

Bên cạnh đó, nhiệt độ là một yếu tố khác có ảnh hưởng đến pH của môi trường, pH và pKa giảm khi nhiệt độ tăng lên [26]. Nhiệt độ được đo và duy trì bằng hệ thống điều nhiệt của máy ủ. Trong các phòng lab IVF, nhiệt độ của hệ thống ủ được đặt ở mức 37 °C để có sự tương đồng với điều kiện trong cơ thể. Dựa vào các tính chất của

màng tế bào tinh trùng, nhiệt độ có thể sẽ làm phá vỡ cấu trúc, gây ảnh hưởng đến hoạt động ty thể và gây các tổn thương oxy hoá, lipid peroxidase.

Ly tâm

Quay ly tâm tinh trùng thường được sử dụng trong quá trình chuẩn bị tinh trùng và là một bước rất cần thiết trong các chu kỳ hỗ trợ sinh sản. Tuy nhiên, bản thân kỹ thuật quay ly tâm có thể sản xuất ROS. Thời gian và nhiệt độ trong suốt quá trình quay ly tâm sẽ ảnh hưởng đến sự sản xuất ROS và tương tự ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng. Quay ly tâm với tốc độ trên 500 g và thời gian trên 5 - 7 phút được nhận thấy ảnh hưởng tiêu cực đến tinh trùng [26].

Thời gian quay ly tâm càng tăng sẽ dẫn đến nhiệt độ lúc quay tăng và làm giảm chất lượng tinh trùng. Sự tăng nhiệt độ trong quá trình quay ly tâm cũng gây giảm số lượng tinh trùng di động, và ảnh hưởng đến kết quả hỗ trợ sinh sản.

Vì vậy, các phương pháp hỗ trợ sinh sản nên hạn chế quay ly tâm, và giảm thời gian ly tâm [26]. Sử dụng các chất chống oxy hoá trước khi ly tâm có thể giúp hạn chế các tác động tiêu cực của ROS trong suốt quá trình ly tâm, từ đó cải thiện chất lượng tinh trùng.

Môi trường nuôi cấy

Có nhiều loại môi trường để nuôi cấy noãn, tinh trùng và phôi để chuẩn bị cho quá trình IVF và ICSI. Thêm một số chất vào môi trường nuôi cấy có thể làm tăng nồng độ ROS ví dụ như: albumin huyết thanh có chứa amine oxidase có thể sản xuất hydrogen peroxide (một dạng của ROS) [26]. Mức độ sản xuất ROS của môi trường nuôi cấy phụ thuộc vào các thành phần có trong môi trường. ROS trong môi trường cấy có thể ảnh hưởng đến sự thụ tinh của noãn và tinh trùng.

Sự bổ sung vào môi trường các chất chống oxy có thể làm giảm OS và giúp cải thiện chất lượng giao tử [26].

Nồng độ oxygen

Dưới điều kiện nuôi cấy với nhiệt độ 37 °C, nồng độ oxygen trong môi trường nuôi cấy tương tự như trong không khí và cao gấp 20 lần so với mức sinh lý nội bào [26]. Oxy đóng vai trò rất quan trọng cho sự phát triển của tế bào và biệt hoá. Tuy vậy đối với các chu kỳ IVF, nồng độ cao oxy có thể kích hoạt hoạt động các enzyme oxy hoá ở màng tế bào. Từ đó sự sản xuất ROS sẽ tăng lên và dẫn đến OS. Một nghiên

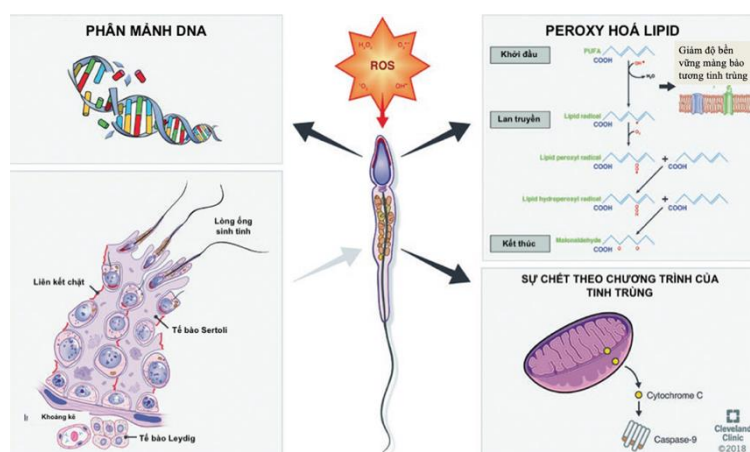
cứu gần đây cho thấy nồng độ gốc oxy hoá trong môi trường nuôi cấy càng cao có thể gây nên các tác động bất lợi lên chất lượng của phôi [106].

1.3.4. Cơ chế gây bệnh

1.3.4.1. Tác động về mặt sinh học phân tử

Lipid peroxidase hoá

Màng bào tương của tinh trùng có những điểm khác so với các tế bào sinh trưởng khác. Một lượng lớn các lipid dạng acid béo không bão hoà hiện diện ở màng bào tương tinh trùng. Khi mức độ gốc oxy hoá cao, các acid béo này sẽ bị tấn công và gây ra một loạt các phản ứng hoá học được gọi là LPO [28]. Khi quá trình LPO diễn ra, gần 60% lượng acid béo sẽ bị mất đi khỏi màng bào tương, từ đó làm giảm tính linh động của màng, và bất hoạt các thụ thể và enzyme liên kết màng.



Hình 1.7. Quá trình tác động của stress oxy hoá [26]

Những nghiên cứu trong phòng thí nghiệm đã nhận thấy mối ảnh hưởng tiêu cực giữa nồng độ malondialdehyde (MDA - một sản phẩm của quá trình lipid peroxidase) lên độ di động của tinh trùng và hình thái tinh trùng. Hơn nữa, một nghiên cứu khác của Colagar và cộng sự đã chỉ rõ nồng độ cao MDA ở các trường hợp tinh trùng bất động, điều này còn ảnh hưởng đến hình thái tinh trùng [77].

Tổn thương DNA tinh trùng

Chất nhiễm sắc của tinh trùng rất nhạy cảm với tác động của stress oxy hoá, dẫn đến sự sửa đổi các base và phân mảnh DNA. Trong suốt quá trình sinh tổng hợp tinh trùng, chất nhiễm sắc được trải qua một loạt các quá trình nhằm thay đổi các liên kết histone thành liên kết bền vững hơn là protamine. Các đơn vị này được gia tăng sự

liên kết bền vững bằng các liên kết bên trong, và liên kết chéo disulfide. Chính sự cô đặc nhân này giúp cho nhiễm sắc thể tinh trùng tránh được các tác động tiêu cực đến từ stress oxy hoá [142]. Tuy nhiên, trong một số trường hợp khi sự cuộn xoắn không đủ hoặc các liên kết protamine chưa hoàn thiện, DNA tỏ ra nhạy cảm với OS và dẫn đến các đột biến mất đoạn, chuyển đoạn, tái sắp xếp chất nhiễm sắc. Tình trạng phân mảnh DNA là yếu tố có thể dẫn đến sự chết tế bào, giảm tỷ lệ thụ tinh, tăng nguy cơ sảy thai và đã được khuyến cáo nên thực hiện kết hợp với tinh dịch đồ nhằm tăng khả năng tiên lượng kết quả điều trị vô sinh [111].

Quá trình chết tế bào

Một giả thuyết khác liên quan đến stress oxy hoá và đứt gãy DNA tinh trùng đó là quá trình chết tế bào không thành công. Chết tế bào là một hiện tượng sinh lý đặc trưng của tế bào ở các biến đổi về hình thái và sinh lý dẫn đến tiêu huỷ các tế bào ở mức độ kiểm soát theo chương trình [24]. Trong quá trình phát triển giai đoạn sớm, chết tế bào rất quan trọng nhằm điều chỉnh tỷ lệ tế bào mầm tạo thành các tế bào Sertoli. Ở độ tuổi trưởng thành, quá trình chết tế bào đóng vai trò chính trong việc ngăn chặn một cách chọn lọc giai đoạn đầu của quá trình sinh tinh bằng cách hạn chế sự sản xuất quá mức các tế bào mầm trong ống sinh tinh dưới tác động của các gốc oxy hoá [24]. Trong một nghiên cứu gần đây. Những bệnh nhân vô sinh có ROS cao được nhận thấy có mức độ chết tế bào cao hơn so với tinh trùng trưởng thành từ nhóm đối chứng.

Rối loạn hoạt động của ty thể

Sự phát triển, trưởng thành và hoạt động chức năng của tinh trùng đòi hỏi năng lượng cao và vì vậy phụ thuộc vào hình thái phù hợp, và chức năng sinh lý của ty thể. Hơn nữa, con đường sản xuất ATP phụ thuộc vào quá trình hô hấp hiếu khí và kênh vận chuyển điện tích, sự sản xuất ROS từ ty thể sẽ được thúc đẩy. Tinh trùng bất động đã được chứng minh có mối liên quan với những rối loạn chức năng của ty thể. Những gen quy định cho protein thuộc kênh vận chuyển electron, đặc biệt là sản xuất ATP, thường bị bất hoạt [109]. Hơn nữa, các gốc oxy hoá có thể có những ảnh hưởng tiêu cực lên DNA của ty thể (mtDNA). Khi sự tổn thương vượt quá khả năng tự sửa chữa của DNA, hệ quả là các hoạt động sinh lý của ty thể bị rối loạn, và thúc đẩy quá trình chết tế bào.

Stress oxy hoá và sự điều chỉnh về mặt di truyền

Các gốc oxy hoá ảnh hưởng trực tiếp đến chức năng sinh sản nam giới thông qua tác động lên DNA tinh trùng. Hơn nữa, nhiều bằng chứng thể hiện rõ những ảnh hưởng lên biểu hiện của gen mà không làm thay đổi trình tự gen. Các điều chỉnh về mức độ gen có thể thúc đẩy sự cô đặc chất nhiễm sắc. Quá trình này bao gồm sự methyl hoá DNA, sự acetyl hoá và phosphoryl hoá. Sự tác động lên quá trình methyl hoá DNA làm rối loạn quá trình sinh tổng hợp tinh trùng, làm giảm tổng số lượng tinh trùng và tăng tỷ lệ vô sinh. Các ảnh hưởng về mặt di truyền dẫn đến stress oxy hoá và vô sinh vẫn còn đang được tập trung nghiên cứu. Nếu được làm rõ, điều này sẽ giúp chúng ta hiểu rõ hơn về sinh bệnh học, từ đó có các giải pháp can thiệp để ngăn chặn nguy cơ vô sinh mà có thể được di truyền qua các thế hệ sau.

1.4. CHẨN ĐOÁN STRESS OXY HOÁ

1.4.1. Các xét nghiệm stress oxy hoá hiện nay

Các phương pháp đo OS bao gồm phương pháp đo trực tiếp mức độ OS hoặc các gốc tự do như ROS và gốc nitrogen phản ứng, trong khi đó các kỹ thuật gián tiếp đo nồng độ của lipid peroxidase, các chất chống oxy hoá (khử), đồng yếu tố, hoặc các sản phẩm thứ phát của tình trạng tăng oxy hoá. Cụ thể hơn, phương pháp đo gián tiếp giúp đo nồng độ các sản phẩm do quá trình oxy hoá quá mức từ nguồn ROS như dạng oxy hoá của nicotinamide adenine dinucleotide (NADPH) - oxidase trong tinh trùng, dạng khử của enzym oxy hóa phụ thuộc NAD (NADH) trong ti thể, hoặc bạch cầu hạt [125].

Một số kỹ thuật xét nghiệm OS phổ biến là: phương pháp trực tiếp bao gồm quang hoá học (chemiluminescence), nitro blue tetrazolium (NBT), xét nghiệm khử hoá cytochrome C, xét nghiệm huỳnh quang (fluorescein probe), phổ cộng hưởng thuận từ điện tử (electron spin resonance) và cân bằng thế oxy hoá - khử (oxidation reduction potential - ORP); phương pháp gián tiếp bao gồm xét nghiệm Endtz, lipid peroxidation, đo chemokines, nồng độ các chất chống oxy hoá/ vi chất/ vitamins, ascorbate, tổng lượng chất chống oxy hoá (total antioxidant capacity - TAC), hoặc đứt gãy DNA. Mỗi phương pháp đều có ưu và nhược điểm riêng [125].

1.4.2. Một số kỹ thuật xét nghiệm OS phổ biến

1.4.2.1. Đo ROS bằng phương pháp quang hoá học

Quang hoá học là một phương pháp có độ nhạy cao và phản ứng với nhiều ROS ở pH trung tính. Sử dụng chất xúc tác thích hợp và ánh sáng để đo được lượng ROS nội bào và ngoại bào sau khi sử dụng luminol hoặc lucigenin làm chất dò [25]. Đo ROS bằng phản ứng quang hoá học sử dụng luminol là phương pháp rất phổ biến trên thế giới để đo nồng độ ROS. Giá trị bình thường trung bình tham khảo dưới 93 đơn vị ánh sáng/s/ 10^6 tinh trùng/mL [25].

Một số hạn chế của phương pháp này là bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố nhiễu như: loại đầu dò sử dụng, thể tích, mật độ tinh dịch, sự quay ly tâm tinh trùng, độ pH tinh trùng... [25]. Một số yếu tố có thể gây nhiễu kết quả của phương pháp này như lượng bạch cầu cao trong tinh dịch có thể ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

1.4.2.2. Đo tổng lượng chất chống oxy hoá trong tinh dịch (TAC)

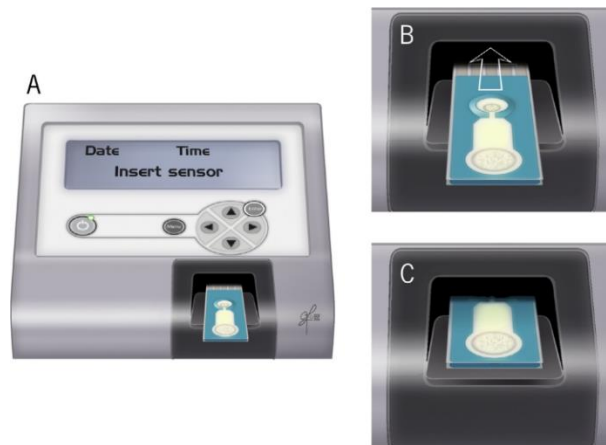
Kỹ thuật TAC đo tổng lượng các chất chống oxy hoá trong tinh dịch (bao gồm các chất enzyme hoặc không phải enzyme, và các đại phân tử). TAC được đo ở mẫu tinh dịch sau khi được lọc rửa loại bỏ các thành phần tế bào khác trong mẫu tinh dịch xuất ra. Đơn vị của TAC là micromoles Trolox chuẩn. Ngưỡng TAC bình thường là >1950 micromoles Trolox chuẩn. TAC thấp hơn đồng nghĩa với tình trạng tăng OS hoặc giảm khả năng chống lại các tác nhân oxy hoá trong mẫu tinh dịch của các bệnh nhân vô sinh nam

Phương pháp này là một phương pháp đo màu nhanh có thể đo được tổng lượng chất chống oxy hoá trong tinh dịch, tuy vậy, kỹ thuật này không phân biệt được các enzyme khử [131]. Bên cạnh đó, phương pháp này rất đắt tiền để có thể áp dụng thường quy trên lâm sàng nhằm khảo sát chức năng sinh sản ở nam giới

1.4.2.3. Đo OS bằng xác định mức độ cân bằng thế oxy hoá - khử (ORP)

ORP là một phương pháp trực tiếp xét nghiệm OS gần đây đánh giá sự cân bằng giữa thế oxy hoá và thế khử trong các mẫu sinh học [125]. Xét nghiệm này liên quan đến sự vận chuyển các electron từ chất khử (hoặc chất chống oxy hoá) đến chất oxy hoá, và có thể xác định được sự cân bằng hay trung hoà giữa các chất oxy hoá và chất

khử. Kỹ thuật này được thực hiện dựa trên hệ thống đo lường hiệu thế Oxy hoá ở bệnh nhân Vô sinh nam (Male Infertility Oxidative System - MiOXSYS, Aytu BioScience Inc., Englewood, CO, USA). Hệ thống này bao gồm máy phân tích MiOXSYS và các bộ cảm biến. Để thực hiện kỹ thuật này, 30 μL mẫu tinh dịch đã hoá lỏng được đưa vào khay đo lường trong vòng 4 phút. Giá trị ORP được chuẩn hoá dựa vào mật độ tinh trùng trong tinh dịch và hiển thị dưới đơn vị cuối cùng là $\text{mV}/10^6$ tinh trùng/mL [125]. ORP trên $1.37 \text{ mV}/10^6$ tinh trùng/mL được kết luận là tăng OS. Không giống như những xét nghiệm hay chất chỉ điểm khác, ORP có thể được sử dụng trong tương lai như một phương pháp độc lập nhằm đánh giá chất lượng của tinh trùng ở bệnh nhân vô sinh nam.



Hình 1.8. Hệ thống MiOXSYS (A), bộ cảm biến để tiến hành xét nghiệm (B-C) [16]

Các bằng chứng hiện tại cho thấy rằng ORP có thể được sử dụng một cách độc lập hoặc kết hợp với kết quả từ tinh dịch đồ nhằm cải thiện độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp này nhằm phân biệt các trường hợp nam giới có chức năng sinh sản bình thường hoặc nam giới vô sinh [16].

Tương tự với xét nghiệm quang hoá học, hầu hết các xét nghiệm ROS đều có một hoặc nhiều hơn chất thăm dò với độ nhạy và độ đặc hiệu khác nhau. Sự khác nhau trong việc lựa chọn các chất thăm dò sẽ dẫn đến kết quả khác nhau với độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng. Trong khi đó, đánh giá sớm mức độ OS có thể cung cấp những thông tin rất hữu ích để lựa chọn chiến lược chẩn đoán và điều trị vô sinh nam. Một kỹ thuật chính xác, dễ sử dụng, ít tốn chi phí là cần thiết để áp dụng trên lâm

sàng. So sánh giữa quang hoá học và ORP, ORP tỏ ra là một lựa chọn tối ưu hơn bởi vì cung cấp trực tiếp dữ liệu liên quan đến OS và đều có thể sử dụng trên tinh dịch đồ bất thường lẫn bình thường và trên bệnh nhân vô sinh nam và bệnh nhân có chức năng sinh sản bình thường [16].

Bảng 1.2. Ưu và nhược điểm của phương pháp đo ORP trong tinh dịch

Kỹ thuật	Ưu điểm	Nhược điểm
ORP [16].	Đánh giá được sự cân bằng giữa tất cả các chất oxy hoá và chất chống oxy hoá trong mẫu sinh học.. Ít tốn thời gian xét nghiệm, và không cần nhiều trang thiết bị chuyên biệt Được sử dụng trong mẫu tươi hoặc mẫu trữ. Theo tác giả Agarwal A., ngưỡng ORP bình thường để chẩn đoán tinh dịch bình thường và bất thường là: $1,36 \text{ mV}/10^6$ tinh trùng/mL; ngưỡng ORP để chẩn đoán nam giới vô sinh hoặc không là: $1,41 \text{ mV}/10^6/\text{mL}$.	Bị ảnh hưởng bởi độ nhớt của mẫu xét nghiệm.

Theo một phân tích tổng hợp cỡ mẫu lớn ở 2092 bệnh nhân, ngưỡng ORP được xác định là $1,34 \text{ mV}/10^6$ tinh trùng/mL để tiên lượng được chất lượng tinh trùng [19].

Tóm lại, các phương pháp hiện nay đánh giá OS dường như đều có các hạn chế của nó như: phức tạp, tốn nhiều thời gian, đắt tiền, và thường chỉ khảo sát được một chất trong mỗi thời điểm. Trong khi đó, ORP có thể được sử dụng ở các đơn vị điều trị quy mô nhỏ và lại là một xét nghiệm độc lập hoặc có thể kết hợp với tinh dịch đồ. ORP với nhiều ưu điểm như dễ sử dụng, nhanh, không tốn nhiều chi phí cũng như các thiết bị quá chuyên sâu, và cung cấp được thông tin tổng quát liên quan đến cân bằng OS. Tuy vậy, cần thực hiện nhiều nghiên cứu liên quan để thấy rõ hiệu quả của phương pháp này.

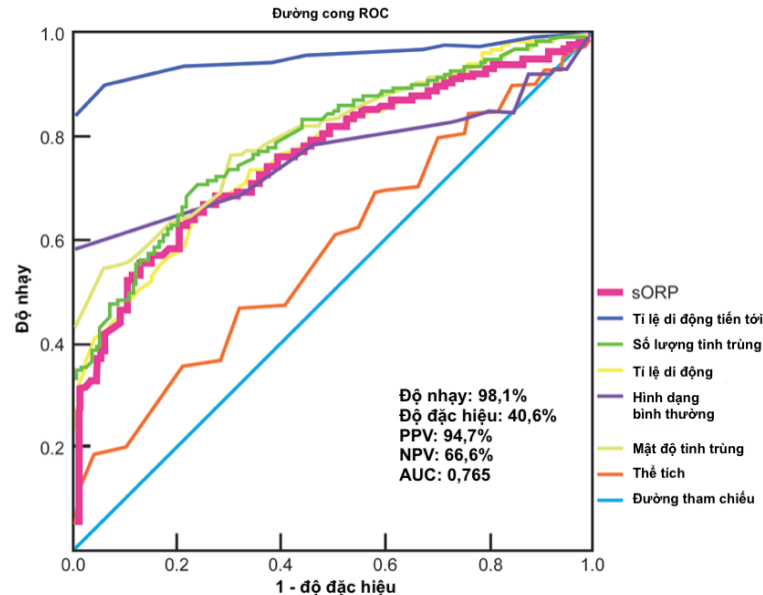
Bảng 1.3. So sánh giữa quang hoá học và ORP [25]

Yếu tố	Quang hoá học	ORP
Mẫu sinh học	Chỉ áp dụng được với mẫu tinh dịch tươi; tinh dịch được lọc rửa bằng phương pháp swim-up và ly tâm gradient tỷ trọng.	Có thể đo mẫu tươi và mẫu trữ lạnh.
Thời gian thực hiện	Lên đến 60 phút kể từ khi bắt đầu: 15 phút phân tích và hơn 30 phút để chuẩn bị mẫu (mẫu chứng, mẫu trống, chứng âm, chứng dương và mẫu xét nghiệm), nhập thông tin, in và tính toán kết quả ROS cuối cùng.	Tốn 4 phút từ lúc bắt đầu đến kết thúc.
Thể tích mẫu xét nghiệm cần thiết	Tối thiểu 2 mẫu với 800 μL mỗi mẫu.	Chỉ cần duy nhất một mẫu với thể tích 30 μL để thực hiện.
Giá thành	Khoảng 30.000 dollars.	Khoảng 100 dollars mỗi bộ cảm biến xét nghiệm.
Các yếu tố nhiễu	Phương tiện đo phổ quang; đơn hay đa ống; thời gian mẫu sau xuất, độ nhớt, sự hiện diện của bạch cầu và các tác nhân gây nhiễu không đặc hiệu khác.	Thiếu tinh năng ($<2 \times 10^6$ tinh trùng/mL), độ nhớt tinh dịch.

Gill và cộng sự đã xác định ngưỡng cắt của giá trị ORP nhằm phân biệt nam giới vô sinh và chức năng bình thường với $\text{ORP} = 1,40 \text{ mV/triệu tinh trùng/mL}$ ($\text{AUC} = 0,857$) [70]. Trong khi đó, Majzoub và cộng sự đã phân biệt tinh dịch đồ có kết quả tổng số tinh trùng di động trên 20 triệu tinh trùng với ngưỡng cắt $2,34 \text{ mV/1 triệu tinh trùng/mL}$ với độ nhạy là 82,9%, độ đặc hiệu là 82,8%, giá trị tiên đoán dương là 91,5%, giá trị tiên đoán âm là 68,5% ($\text{AUC} = 0,9$) [95]. Các kết quả về giá trị ORP có sự dao động lớn từ giá trị thấp như $0,9 \text{ mV/triệu tinh trùng/mL}$ ở nghiên cứu của Majzoub [95], cho đến giá trị lớn hơn nhiều như ở nghiên cứu của Takashi và cộng sự [152] với $4,02 \text{ mV/triệu tinh trùng/mL}$ ở nhóm bệnh nhân nam giới giãn tĩnh mạch tinh. Các rối loạn ảnh hưởng đến khả năng sinh tinh khác như yếu tố lối sống, bệnh lý tại đường sinh dục, hội chứng chuyển hoá, nhiễm trùng... đã được chứng minh gây suy giảm chất lượng tinh trùng thông qua cơ chế gây nên stress oxy hoá trong tinh dịch [21], [23], [24], [28]. Một nghiên cứu gần đây nhận thấy nam giới có kết quả tinh trùng di động kém thì nguy cơ xuất hiện $\text{SDF} > 20\%$ (mức độ tổn thương DNA tinh trùng cao) và $\text{ORP} > 1,37$ cao hơn đáng kể so với nhóm chứng là các trường hợp tinh trùng di chuyển bình thường. Nguy cơ tổn thương DNA tinh trùng và stress oxy hóa ở nam giới tinh trùng bất động cao hơn lần lượt là 10 lần và 6 lần so với nhóm chứng [69]. Tác giả Homa và cộng sự năm 2019 đã sử dụng nhiều phương pháp phân tích stress oxy hoá như đo nồng độ các gốc oxy hoá, đo cân bằng thể oxy hoá - khử nhằm làm rõ mối liên hệ với chỉ số tinh dịch đồ, và đứt gãy DNA tinh trùng [76]. Kết quả cho thấy mối liên quan nghịch giữa tổng các gốc oxy hoá, ORP, DFI với tỷ lệ tinh trùng di động ($p = 0,0012$; $0,0002$; $<0,0001$) và tỷ lệ tinh trùng còn sống ($p < 0,0001$; $0,019$; $<0,0001$). Trong đó, mối liên quan tỏ ra rõ ràng hơn thông qua đánh giá bằng chỉ số ORP. Chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng tăng lên ở các trường hợp có stress oxy hoá chẩn đoán thông qua chỉ số tổng các gốc oxy hoá ($p = 0,0052$), hoặc ORP ($p = 0,004$).

Nhìn chung, đánh giá stress oxy hoá thông qua phương pháp đo cân bằng thể oxy hoá - khử cho thấy các tác động bất lợi của stress oxy hoá lên chức năng sinh sản ở nam giới. Tuy nhiên, cần có các nghiên cứu với quy mô lớn trên thế giới về phương

pháp này để cung cấp những bằng chứng mạnh mẽ để xác định ngưỡng chẩn đoán chính xác nhất và áp dụng trên lâm sàng.



Biểu đồ 1.4. Đường cong ROC xác định ngưỡng ORP ($mV/10^6$ tinh trùng/mL) [19].

1.5. LIỆU PHÁP CAN THIỆP

1.5.1. Chất chống oxy hoá

Các chất chống oxy hoá bao gồm nhóm chống oxy hoá enzyme (SOD, glutathione reductase - GSH, catalase...) và nhóm chống oxy hoá không phải enzyme (vitamin C, vitamin E, acid folic, L-Carnitine, Coenzyme Q₁₀, và melatonin) [21]. Mặc dù việc sử dụng các chất chống oxy hoá không enzyme thường phổ biến hơn là nhóm enzyme, cả hai nhóm đều có những vai trò rất quan trọng giúp giảm thiểu OS. Sử dụng các chất chống oxy hoá đường uống được nhận thấy giúp cải thiện chất lượng giao tử, đặc biệt cải thiện độ bền vững DNA tinh trùng [173].

1.5.1.1. Các chất chống oxy hoá là enzyme

Superoxide Dismutases

Trong tế bào, superoxide dismutases (SODs) là hàng rào bảo vệ đầu tiên chống lại các gốc oxy hoá. Chúng có tác dụng xúc tác làm ngăn chặn quá trình chuyển các anion O₂⁻ thành phân tử O₂ và sau đó thành nước.

Hammadeh và cộng sự đã quan sát các tác dụng khác nhau của các chất chống oxy hoá enzyme trong tinh dịch ở những bệnh nhân được chỉ định IVF và ICSI. Nồng

độ ROS trong tinh dịch cao có những ảnh hưởng tiêu cực đến độ bền vững của màng tế bào, cấu trúc của nhân tinh trùng, và khả năng thụ tinh tinh trùng [73]. Hơn nữa, nồng độ SOD được nhận thấy có tương quan thuận với tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường, vì vậy có thể kết luận rằng các chất chống oxy hoá là enzyme có vai trò rõ rệt nhằm hỗ trợ chức năng sinh sản nam giới.

Mối liên quan giữa SOD với MDA (một chất chỉ điểm cho lipid peroxidase) ở nam giới có tinh dịch đồ bình thường và tinh trùng dị dạng đã được khảo sát và tìm thấy được các enzyme chống oxy hoá ức chế quá trình lipid peroxidase trong tinh trùng ở những nam giới có tinh dịch đồ bình thường [153].

Catalase

Tinh tương là nơi chứa catalase (CAT) và được tiết chủ yếu từ tuyến tiền liệt. Enzyme này có vai trò quan trọng giúp ngăn chặn quá trình chuyển hoá H_2O_2 thành H_2O và O_2 . Ở nam giới, CAT giúp cải thiện tỷ lệ tinh trùng di động, tỷ lệ tinh trùng sống và độ bền vững DNA tinh trùng [102]. Trong nghiên cứu này, 200 $\mu L/mL$ CAT được thêm vào mẫu tinh trùng khi trữ lạnh, và sau đó 24 giờ tinh trùng được tiến hành trữ lạnh. Kết quả tinh trùng sau rã nhận thấy tăng tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới và tinh trùng sống, trong khi tỷ lệ % đứt gãy DNA giảm rõ rệt khi so sánh giữa mẫu có thêm CAT và mẫu không thêm CAT.

Một nghiên cứu gần đây đã tìm thấy những ảnh hưởng tích cực của CAT lên chất lượng tinh trùng [170]. Mẫu tinh trùng từ nam giới có tinh dịch đồ bình thường có hoạt động của CAT trong tinh dịch nhiều hơn hẳn so với nam giới có tinh dịch đồ bất động nhiều. Hơn nữa, nồng độ CAT có sự tương quan thuận với số lượng tinh trùng đếm được.

Glutathione Peroxidase và N-acetyl cystein

Glutathione peroxidase (GPX) là một trong những yếu tố quan trọng nhất của hệ thống loại trừ các gốc oxy hoá trong tinh tương. Một vài nghiên cứu đã tìm vai trò của GPX trong tinh dịch. Một công bố gần đây đã tìm thấy mối liên quan giữa nồng độ GPX trong tinh tương với các chỉ số trên tinh dịch đồ. Tuy nhiên, chỉ số này không có liên quan rõ rệt với kết quả điều trị trong các chu kỳ IVF/ICSI [54]. Tác giả đã

nhận thấy hoạt động GPX thấp hơn ở những bệnh nhân có tinh dịch đồ bất thường khi so với nhóm có tinh dịch đồ bình thường.

N-acetyl cystein (NAC) giúp bổ sung các GSH và loại bỏ các gốc oxy hoá và giảm nồng độ ROS trong mẫu tinh dịch. Một nghiên cứu ngẫu nhiên có đối chứng năm 2009 đã báo cáo về khả năng kết hợp giữa NAC và Se có những lợi ích lên mật độ tinh trùng và hình thái tinh trùng. Sau 26 tuần điều trị, tỷ lệ tinh trùng di động cải thiện rõ rệt khi so sánh với nhóm giả dược [173].

1.5.1.2. Các chất chống oxy hoá không phải enzyme

Các chất chống oxy hoá không phải enzyme bao gồm các chất chống oxy hoá tổng hợp hoặc các vi chất, có tác dụng ức chế sự sản xuất ROS như vitamin E, vitamin C, melatonin và các chất chống oxy hoá tự nhiên khác.

Vitamin E

Vitamin E là một trong tám nhóm hợp chất hoà tan trong chất béo bao gồm tocopherols và tocotrienols. Alpha - tocopherol là một trong những hợp chất chống oxy hoá có thể hoà tan trong chất béo quan trọng nhất và cũng là dạng hoạt động mạnh nhất của vitamin E, tồn tại chủ yếu trên màng tế bào. Vitamin E giúp ngăn chặn chuỗi phản ứng sinh bệnh của ROS, giúp tăng sự bền vững màng tế bào để tránh các tác động từ stress oxy hoá [100]. Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng của vitamin E đơn thuần hoặc kết hợp với các vitamins khác.

Một nghiên cứu đối chứng ngẫu nhiên được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng của vitamin E lên các trường hợp vô sinh không rõ nguyên nhân [51]. Nghiên cứu này đã chỉ định ngẫu nhiên vitamin E cho các trường hợp vô sinh vô căn được điều trị bơm tinh trùng vào buồng tử cung (intrauterine insemination - IUI). Tỷ lệ có thai và thai diễn tiến cao hơn ở nhóm có sử dụng vitamin E, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê; độ dày niêm mạc tử cung lại có sự cải thiện rõ rệt hơn. Các nghiên cứu trên động vật cũng cho thấy những tác động có lợi lên chất lượng tinh trùng, thông qua quá trình sinh tổng hợp tinh trùng và tăng sự chống stress oxy hoá trong tinh dịch [35].

Vitamin C

Vitamin C (L-acid ascorbic, ascorbate) từ lâu đã được xem là một cơ chất rất quan trọng đối với chức năng sinh sản. Nhiều nghiên cứu đã tìm thấy mối liên quan

rõ rệt giữa nồng độ vitamin C trong tinh dịch với chất lượng tinh trùng ở các nam giới bình thường lẫn bệnh nhân vô sinh nam. Một nghiên cứu đã đánh giá độ đứt gãy DNA tinh trùng ở mẫu tinh dịch ở nam giới vô sinh có thể hạn chế bằng cách sử dụng vitamin C và vitamin E. Bổ sung 1g vitamin C và 1g vitamin E hằng ngày sẽ giúp giảm DFI [71].

Melatonin

Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine) là một chất chống oxy hoá rất phổ biến, có nhiều vai trò quan trọng và được sản xuất bởi tuyến tùng vào ban đêm nhằm điều chỉnh hàng loạt các hoạt động của cơ quan trung tâm và ngoại biên liên quan đến nhịp sinh học và chức năng sinh sản.

Ở nam giới, melatonin xuất hiện ở tinh dịch và ở các thụ thể màng tế bào của tinh trùng. Các tác động trong ống nghiệm của melatonin trên tinh trùng như độ di động, mật độ đã được khảo sát [113]. Nghiên cứu này đã tìm thấy mối liên quan thuận giữa nồng độ 6-sulfatoxy melatonin trong nước tiểu và TAC với mật độ tinh trùng, tỷ lệ di động và hình thái bình thường; và mối liên quan nghịch với số lượng tế bào tròn.

Vitamin B: Acid Folic

Acid folic là một cơ chất được sử dụng để hỗ trợ điều trị vô sinh. Đây là nhóm vitamin B liên quan đến quá trình chuyển hoá một carbon để chuyển hoá thành purine và pyrimidine và ảnh hưởng trực tiếp đến sự tổng hợp và duy trì tính bền vững của DNA.

5mg acid folic được bổ sung ở nam giới vô sinh không rõ nguyên nhân trong 26 tuần sẽ giúp tăng nồng độ folate trong tinh dịch. Mặc dù tỷ lệ tinh trùng di động và số lượng tinh trùng chưa thấy sự cải thiện, nhưng tổng tinh trùng bình thường sau sử dụng acid folic và kẽm sulphate tăng đến 74% [161].

Coenzyme Q₁₀

Coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) thường được gọi là các ubiquinones chủ yếu được sản xuất từ ti thể tế bào và hiện diện trong tinh tương, có vai trò quan trọng trong chuyển hoá và chống oxy hoá, và có mối liên quan với số lượng tinh trùng cũng như tỷ lệ tinh trùng di động. Sự thay đổi về nồng độ CoQ₁₀ có thể liên quan với tình trạng vô sinh ở nam giới, như tinh trùng bất động [137]. CoQ₁₀ là một chất chống oxy hoá duy nhất tan trong dầu được tổng hợp nội sinh. CoQ₁₀ hỗ trợ cho quá trình tổng hợp vitamin E, cải thiện khả năng chống oxy hoá và sản xuất năng lượng. Bổ sung CoQ₁₀ giúp cải

thiện rõ rệt chất lượng tinh trùng thể hiện ở các chỉ số tinh dịch đồ, tuy vậy kết quả có thai vẫn còn chưa rõ rệt [146].

Một nghiên cứu năm 2019 đánh giá hiệu quả của CoQ₁₀ trên bệnh nhân OAT dựa vào các chỉ số liên quan đến OS như TAC, SOD, CAT. CoQ₁₀ giúp tăng tổng lượng chất chống oxy hoá, hoạt động của superoxide dismutase và CAT. So sánh giữa hai nhóm điều trị với phác đồ CoQ₁₀ liều 200 mg/ngày và liều 400 mg/ngày, tác giả nhận thấy với liều 400 mg mỗi ngày thì hiệu quả điều trị của CoQ₁₀ rõ rệt hơn [29].

L - Carnitine

L-Carnitine (LC) là một phân tử tan trong nước có nhiều chức năng quan trọng liên quan đến sự chuyển hoá chất béo. LC có nồng độ cao ở các mô tiêu tốn nhiều năng lượng như xương, cơ tim và mào tinh hoàn.

Một nghiên cứu đã tìm thấy hiệu quả điều trị của LC ở những bệnh nhân tinh trùng OAT. Bệnh nhân được chỉ định điều trị với 1500mg L-Carnitine và nhận thấy sự cải thiện rõ rệt mật độ tinh trùng, và tỷ lệ hình thái bình thường, mặc dù tỷ lệ tinh trùng di động lại không nhận thấy sự tăng lên sau điều trị [105].

Nghiên cứu gần đây năm 2019 đã nhận thấy sự cải thiện rõ rệt mật độ tinh trùng, hình thái tinh trùng bình thường, tỷ lệ tinh trùng di động, sau khi điều trị với phác đồ đa vi chất gồm 500 mg L-Carnitine kết hợp với một số vi chất khác [41].

Selenium

Selenium (Se) có thể giúp tinh trùng chống lại các tác nhân gây oxy hoá và làm tổn thương DNA và rất cần cho sự phát triển bình thường của tinh hoàn, sinh tổng hợp tinh trùng, duy trì chức năng và di động cho tinh trùng. Cơ chế lý giải về tác dụng selenium đến nay vẫn chưa rõ. Mối liên quan mật thiết giữa mật độ tinh trùng và nồng độ Se trong tinh dịch ở bệnh nhân vô sinh đã được khảo sát. Hiệu quả của việc kết hợp Se với vitamin E đã được nghiên cứu bởi vì vitamin E như là một chất hiệp đồng với Se để chống oxy hoá.

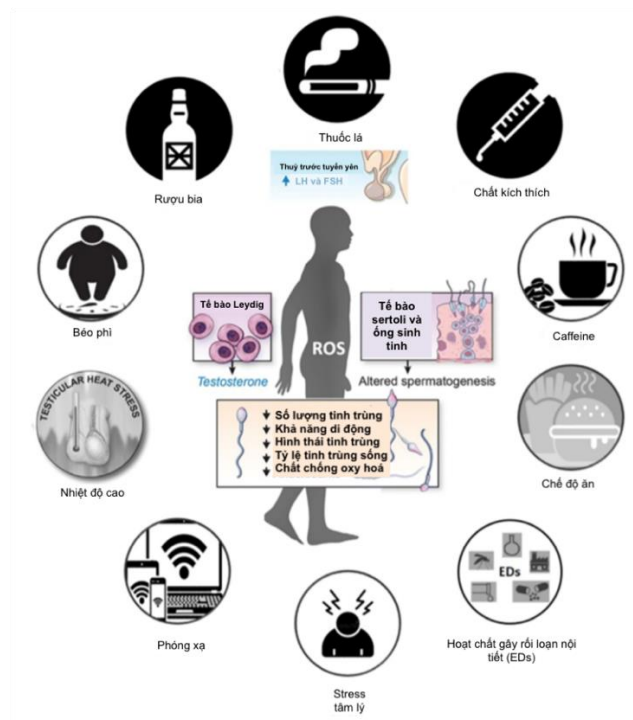
Kim loại vi lượng

Lượng kẽm và đồng phù hợp là cần thiết để duy trì hoạt động các chất chống oxy hoá là enzyme, như superoxide dismutase. Liều khuyến cáo tại Mỹ là 12,3 mg kẽm và 900 mcg đồng mỗi ngày. Sự thiếu hụt kẽm thường dẫn đến sự bất thường hình

dạng của đuôi tinh trùng với hình thái phì đại, tăng sản vỏ xơ rõ rệt, gián đoạn trục đuôi và khuyết tật một phần nhánh dynein bên trong bộ đôi vi ống, cấu trúc trục biến dạng hoặc sự biến mất của phần giữa tinh trùng [112]. Bổ sung kẽm kết hợp nhiều vi chất khác có thể giúp cải thiện chất lượng tinh trùng, và tăng tỷ lệ có thai. Một thử nghiệm ngẫu nhiên đối chứng bởi Omu năm 2008 đã kết luận liệu pháp bổ sung kẽm ở các bệnh nhân vô sinh giúp giảm MDA, TNF, các chỉ điểm của chết tế bào, tự kháng thể tinh trùng và đứt gãy DNA tinh trùng; và kích thích hoạt động của Zn-Cu-SOD và cytokine kháng viêm IL-4 [112].

1.5.2. Các phương pháp khác liên quan đến yếu tố lối sống

Các bằng chứng hiện nay đều cho thấy được sự cải thiện về chất lượng tinh trùng ở nam giới khi kiểm soát được yếu tố béo phì thông qua quá trình tập luyện hoặc thay đổi chế độ ăn. Mặc dù có thể chỉ số BMI không thay đổi rõ rệt nhưng các chỉ số tinh trùng như mật độ, tỷ lệ di động, hình thái bình thường và độ đứt gãy DNA đều có sự cải thiện tốt [72]. Hơn nữa, chế độ ăn cũng có những mối liên quan với chất lượng tinh trùng cụ thể hơn: chế độ ăn nhiều trái cây, rau củ, chất xơ, hải sản, hạt, dầu thực vật và các thực phẩm chứa nhiều chất chống oxy hoá [66].



Hình 1.9. Các yếu tố lối sống ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng [92]

Bảng 1.4. Điều chỉnh các yếu tố lối sống để cải thiện chức năng sinh sản ở nam giới [92]

Yếu tố điều chỉnh	Cách thực hiện
Dinh dưỡng	- Tăng cường sử dụng thực phẩm thực vật như rau củ, trái cây, chất xơ và các chế phẩm nhiều chất chống oxy hoá, hạt ngũ cốc, cá và hải sản - Hạn chế sử dụng đường và thức ăn nhanh, nước ngọt, thịt đỏ, thịt chế biến sẵn, chế độ ăn nhiều mỡ.
Thuốc lá, rượu bia và cà phê	- Ngưng hút thuốc lá hoàn toàn - Tiêu thụ rượu bia ít với liều lượng nhiều nhất cho phép (1 đơn vị mỗi ngày) - Tiêu thụ cà phê vừa phải (1 - 3 ly cà phê tương đương 800 mg caffeine)
Kiểm soát cân nặng	- Giảm mỡ bằng tập luyện - Chế độ dinh dưỡng hợp lý - Bổ sung vi chất cần thiết
Kiểm soát stress tâm lý	- Liệu pháp tâm lý - Tập luyện yoga hoặc ngồi thiền - Giảm stress giúp cải thiện được đời sống tình dục và chất lượng sinh sản
Tránh tiếp xúc với các yếu tố nguy cơ khác	- Stress do nhiệt độ quá cao (ví dụ như: tắm nước nóng, mang áo quần quá bó, ngồi tại chỗ lâu) - Sự bức xạ (ví dụ như: điện thoại di động và sử dụng laptop) - Các chất độc hoá học (ví dụ như các sản phẩm vô cơ và nhựa) - Sử dụng thuốc: cần sa, opioids, các đồng chất steroids

Ngưng hút thuốc lá hoàn toàn là rất quan trọng để cải thiện các chỉ số tinh dịch đồ, bởi vì hút thuốc lá đã được chứng minh gây nên những suy giảm về chất lượng

tinh trùng và chức năng sinh sản nam giới, cũng như hiệu quả điều trị của các chu kỳ hỗ trợ sinh sản [55]. Vì các tác động bất lợi của rượu bia trên chức năng sinh sản nam giới như làm suy giảm chất lượng tinh trùng, tăng tình trạng stress oxy hoá tinh dịch, gây rối loạn nội tiết sinh dục, và chức năng tinh dục, rượu bia cần được hạn chế sử dụng để cải thiện hiệu quả điều trị vô sinh [138]. Sử dụng caffein nên dừng ở mức trung bình cụ thể là: không quá 800 mg mỗi ngày [82].

Điều chỉnh tâm lý cũng rất quan trọng bao gồm ngồi thiền, tập yoga có thể giúp tăng thể lực và hoạt động tinh dục nam [168]. Việc kiểm soát các stress liên quan đến tâm lý có thể giúp cải thiện đời sống tình dục và kết quả có thai. Tuy vậy, hầu hết các nghiên cứu vẫn chưa đưa ra được ngưỡng cần thiết để kiểm soát các yếu tố liên quan đến lối sống. Các nghiên cứu cỡ mẫu lớn hơn đánh giá nhiều phương diện liên quan đến lối sống cần được thực hiện nhằm khảo sát các lợi ích thực sự từ việc thay đổi lối sống mang lại đối với chức năng sinh sản ở nam giới.

1.6. CÁC NGHIÊN CỨU CÓ LIÊN QUAN TRONG VÀ NGOÀI NƯỚC

1.6.1. Các nghiên cứu trên thế giới

Một nghiên cứu của Tunc năm 2009 đã bổ sung thêm các bằng chứng về tác dụng của liệu pháp chống oxy hoá kết hợp nhằm cải thiện độ bền vững DNA tinh trùng, đặc biệt đối với những bệnh nhân điều trị IVF/ICSI. Ở nghiên cứu này, 50 bệnh nhân vô sinh nam có tăng OS được điều trị bằng phác đồ chống oxy hoá đường uống Menevit trong 3 tháng. Kết quả nhận thấy rằng nam giới tăng độ đứt gãy DNA được điều trị chống oxy hoá trước khi IVF-ICSI sẽ giúp tăng độ bền vững DNA tinh trùng, và giảm sự sản xuất các gốc oxy hoá trong tinh dịch [157]. Tóm lại, các phác đồ kết hợp có thể giúp điều trị tình trạng tinh trùng bất động dựa vào nhiều cơ chế bao gồm: giảm tình trạng OS, chết tế bào và đứt gãy DNA tinh trùng.

Một báo cáo khác của Ross năm 2010 và cộng sự đã phân tích 17 thử nghiệm ngẫu nhiên, bao gồm tổng cộng 1665 trường hợp vô sinh nam trong đó chất chống oxy hóa đường uống được so sánh với giả dược hoặc không điều trị. Mặc dù phương pháp nghiên cứu không đồng nhất, việc cải thiện các thông số tinh dịch sau liệu pháp chống oxy hóa đã được báo cáo trong 14 trong số 17 thử nghiệm [129]. Tỷ lệ mang

thai được thống kê trong 7 thử nghiệm, 6 trong số đó cho thấy một sự cải thiện đáng kể sau khi điều trị chất chống oxy hóa. Các tác giả kết luận rằng việc sử dụng chất chống oxy hóa đường uống ở đàn ông vô sinh có thể có tác dụng có lợi về chất lượng tinh trùng và tỷ lệ mang thai.

Theo một phân tích tổng quan gần đây năm 2019, sự tăng lên về các gốc oxy hoá cùng với khả năng chống oxy hóa giảm sẽ dẫn đến tình trạng OS, dẫn đến peroxid hóa lipid màng tinh trùng, giảm khả năng vận động, tổn thương DNA tinh trùng, ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ mang thai và kết quả hỗ trợ sinh sản, và tăng nguy cơ mắc các bệnh di truyền ở các thế hệ sau [30]. Nhiều tác giả gần đây cũng đã gợi ý rằng cùng với việc đánh giá stress oxy hóa trong tinh dịch, hoặc sử dụng chống oxy hoá có thể tác động trực tiếp lên sự phát triển của tinh trùng ngay từ thời điểm tinh nguyên bào và tiếp tục giúp điều hoà stress oxy hoá trong tinh hoàn và mào tinh hoàn [68]. Do đó, các thông số oxy hóa khử được xem xét có thể hữu ích để phát triển các chiến lược điều trị mới dựa trên việc bổ sung chất chống oxy hóa nhằm giảm tình trạng stress oxy hóa toàn thân ở nam giới vô sinh, cải thiện chẩn đoán và điều trị vô sinh nam cũng như tỷ lệ thành công điều trị hỗ trợ sinh sản

Các bằng chứng hiện nay đều ủng hộ cho việc sử dụng các chất chống oxy hoá với nhau để giảm các gốc oxy hoá và dự phòng OS. Hiệu quả của việc kết hợp các chất chống oxy hoá không enzyme được nghiên cứu ở những bệnh nhân nam điều trị IUI. Ảnh hưởng của chất chống oxy hoá đường uống lên chất lượng tinh trùng ở bệnh nhân IVF/ICSI cũng được khảo sát khi bệnh nhân được chỉ định FertilovitRMplus hai lần mỗi ngày trong 2 tháng [160]. Tỷ lệ tinh trùng không di động giảm rõ rệt sau khi điều trị. Ngoài ra, một loại thuốc khác là Profortil cũng đã được sử dụng trong điều trị: Một số nghiên cứu trên thế giới đã sử dụng Profortil nhằm hỗ trợ cải thiện chất lượng tinh trùng [32], [140]. Các kết quả cho thấy những tác động có lợi của Profortil trong việc cải thiện một số chỉ số chất lượng tinh trùng.

Tuy nhiên, khi đã được chẩn đoán vô sinh có tăng tình trạng OS, các chiến lược điều trị dựa vào nguyên nhân cụ thể nên được ưu tiên trước khi chỉ định các phương pháp hỗ trợ chất chống oxy hoá. Các yếu tố liên quan lối sống như: rượu bia, hút

thuốc lá, sử dụng quá nhiều caffein, chế độ ăn ít vitamin, không vận động thể lực, béo phì, ô nhiễm môi trường, bức xạ... cần được kiểm soát để đạt hiệu quả điều trị tốt hơn.

Một tổng quan nghiên cứu Cochrane được thực hiện năm 2019 trên 48 nghiên cứu RCTs với tổng số 4179 bệnh nhân vô sinh nam được so sánh các chỉ số về tỷ lệ có thai, sảy thai, một số chỉ số tinh dịch đồ và đứt gãy DNA tinh trùng [148]. Tác giả đã kết luận rằng các bằng chứng hiện nay đều xuất phát từ các nghiên cứu ngẫu nhiên đối chứng với cỡ mẫu rất nhỏ. Hiệu quả của các chất chống oxy hoá rõ ràng giúp cải thiện chức năng sinh sản. Tuy vậy, các kết quả chưa có sự thống nhất bởi vì khác nhau về phác đồ điều trị, phương pháp chọn lựa chỉ số đánh giá và các yếu tố nhiễu khác. Vì vậy, cần những bằng chứng từ nghiên cứu so sánh đối chứng với cỡ mẫu lớn hơn để làm sáng tỏ các vấn đề này.

Theo một tổng quan lớn từ Cochrane năm 2022, các bằng chứng có mức độ yếu từ 12 thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng cho thấy rằng việc bổ sung chất chống oxy hóa ở nam giới hiếm muộn có thể cải thiện tỷ lệ thai sinh sống cho các cặp vợ chồng đến khám tại các phòng khám hỗ trợ sinh sản. Tuy nhiên chất chống oxy hóa có thể gây một số khó chịu ở đường tiêu hóa mức độ nhẹ. Vì những sai lệch ngẫu nhiên về phương pháp can thiệp và cỡ mẫu chưa đủ mạnh để đưa ra các kết luận cuối cùng, các tác động của liệu pháp chống oxy hóa ở nam giới lên kết quả có thai cuối cùng vẫn chưa được khẳng định [57].

1.6.2. Các nghiên cứu trong nước

Cho đến nay, các nghiên cứu về stress oxy hoá trong mẫu tinh dịch nam giới tại Việt Nam vẫn còn rất ít. Những khó khăn về kỹ thuật phức tạp, giá thành cao khiến việc thực hiện thăm dò stress oxy hoá trong tinh dịch nam giới trở nên hạn chế. Một số ít nghiên cứu tại Việt Nam đã bắt đầu tiếp cận tìm mối liên quan giữa stress oxy hoá và chức năng sinh sản ở nam giới lẫn nữ giới. Nghiên cứu của tác giả Huỳnh Thị Hồng Vinh và cộng sự năm 2013 đã đánh giá tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch ở nam giới vô sinh bằng phương pháp quang hoá học và đã nhận thấy chỉ số đánh giá ROS có mối tương quan nghịch với mật độ tinh trùng ($R=-0,123$, $p<0,01$) và độ di

động tinh trùng ($R=-0,166$, $p<0,01$), và nồng độ ROS thấp nhất ở mẫu tinh dịch của nhóm bệnh nhân có chỉ số tinh dịch bình thường [11]. Theo tác giả Mai Bá Tiến Dũng, vai trò các chất chống oxy hóa trong điều trị vô sinh nam được thể hiện qua: giúp ổn định màng tế bào, giảm tổn thương DNA của tinh trùng, cải thiện quá trình chết theo chương trình của tế bào [1]. Trên đối tượng nữ giới, nghiên cứu của tác giả Lưu Thị Minh Tâm vào năm 2016 đã đánh giá sự ảnh hưởng của stress oxy hoá trong dịch nang lên chất lượng phôi sau thụ tinh trong ống nghiệm. Nghiên cứu này chưa nhận thấy mối liên quan chặt chẽ giữa hai yếu tố này, tuy nhiên, buồng trứng có tình trạng stress oxy hoá thấp hơn thường cho kết quả phôi tốt hơn [10].

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ ĐỊA ĐIỂM NGHIÊN CỨU

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu bao gồm các nam giới từ cặp vợ chồng được chẩn đoán vô sinh theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) [164] đến khám và điều trị tại Trung tâm Nội tiết sinh sản và Vô sinh, Trường Đại học Y-Dược Huế trong thời gian từ tháng 12/2020 đến tháng 12/2023.

2.1.2. Tiêu chuẩn chọn bệnh

Mục tiêu 1:

Bao gồm các nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh thỏa mãn các điều kiện sau:

- Lấy được mẫu tinh dịch bằng cách thủ dâm.
- Mẫu tinh dịch đủ điều kiện nhằm phân tích tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng, và stress oxy hoá tinh dịch.
- Có đầy đủ thông tin nghiên cứu theo mẫu phiếu điều tra.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

Mục tiêu 2:

Bao gồm các trường hợp tham gia nghiên cứu đồng ý tham gia vào điều trị và có bất thường về tinh trùng, thỏa mãn ít nhất 1 trong 3 điều kiện sau:

- Bất thường kết quả tinh dịch đồ
- Đứt gãy DNA tinh trùng xác định theo phương pháp phân tán chất nhuộm sắc.
- Tăng ORP trong mẫu tinh dịch.

2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ

- Những bệnh nhân đang mắc các bệnh toàn thân cấp và mạn tính (nhiễm trùng tiết niệu - sinh dục cấp, xơ gan, suy thận, bệnh lý ác tính,...).
- Tiền sử điều trị bằng các thuốc chống oxy hoá, thuốc giảm cân, trong khoảng thời gian 6 tháng gần đây.
- Xuất tinh ngược dòng.
- Vô tinh.

- Bệnh nhân không tuân thủ điều trị, ngừng điều trị đột ngột hoặc mất dấu.
- Bệnh nhân không đủ thông tin nghiên cứu.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Mục tiêu 1: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

Mục tiêu 2: Nghiên cứu can thiệp, theo dõi dọc

2.2.2. Cỡ mẫu

Mục tiêu 1:

Cỡ mẫu nam giới ở các cặp vợ chồng vô sinh được đánh giá stress oxy hoá được tính theo công thức ước tính cỡ mẫu theo tỷ lệ mắc bệnh:

$$N = Z_{1 - \alpha/2}^2 P(1 - P)/d^2$$

Trong đó:

α : Mức ý nghĩa thống kê (chọn $\alpha = 0,05$).

$Z_{1 - \alpha/2}$: giá trị $Z_{1 - \alpha/2}$ tương ứng là 1,96 với mức tin cậy 95%.

P: tỷ lệ ước tính, chọn $P = 0,838$ (Dựa vào phân tích tổng hợp nhằm đưa ra các khuyến cáo liên quan đến stress oxy hoá trong tinh dịch của tác giả Agarwal và cộng sự năm 2019) [20].

d : độ chính xác tuyệt đối mong muốn (confident limit around the point estimate), $d = 0,04$ (4%)

Cỡ mẫu ước tính là: $n = 1,96^2 \times 0,838 (1 - 0,838) / 0,04^2 = 325$ trường hợp.

Cỡ mẫu nam giới ở cặp vợ chồng vô sinh mà chúng tôi thu thập được bao gồm 351 trường hợp.

Mục tiêu 2:

Cỡ mẫu nam giới được chỉ định điều trị bằng liệu pháp chống oxy hoá và đánh giá hiệu quả trước và sau điều trị được tính theo công thức:

$$N = 2C(1 - r)/ES^2$$

Trong đó:

ES: Sự khác biệt chuẩn hoá ($ES = x_1 - x_0 / s_0$; trong đó x_1 và x_0 là giá trị trung bình của chỉ số sau và trước khi điều trị, và s_0 là độ lệch chuẩn trước điều trị)

r: Hệ số tương quan (Lựa chọn $r=0,6$)

C: Sai số chấp nhận (Với khoảng tin cậy 95%, sai số C có giá trị 7,85)

Với cỡ mẫu dự kiến cho nhóm có stress oxy hoá trong tinh dịch, $x_1=8,0$ mV/1 triệu tinh trùng/mL; $x_0=13,5$ mV/1 triệu tinh trùng/mL, $s_0=17,2$; ES có giá trị là 0,3 [37]. Cỡ mẫu dự kiến là: $N=2 \times 7,85(1 - 0,6)/0,3^2 = 70$ trường hợp.

Với nhóm có tinh dịch đồ bất thường, đánh giá riêng cỡ mẫu ở sự thay đổi riêng lẻ từng chỉ số như: tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới ($x_1=35,1\%$; $x_0=30,2\%$, $s_0=16,3$), mật độ ($x_1=25,5$ triệu tinh trùng/mL, $x_0=16,4$ triệu tinh trùng/mL, $s_0=17,1$), tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường ($x_1=4,1\%$; $x_0=2,2\%$, $s_0=1,7$) với ES tính được lần lượt là: 0,3; 0,5; 1,1 [37]. Cỡ mẫu yêu cầu lần lượt là: 70 trường hợp, 22 trường hợp, và 5 trường hợp. Vậy cỡ mẫu dự kiến cho nhóm này là 70 trường hợp.

Đối với nhóm có đứt gãy DNA tinh trùng ($x_1=42,4\%$; $x_0=56,5\%$, $s_0=16,9$) với ES ước tính là 0,8 [37], cỡ mẫu dự kiến là 10 trường hợp.

Do đó, cỡ mẫu yêu cầu cho mục tiêu 2 là 70 trường hợp; với tỷ lệ 10% cho các bệnh nhân bỏ trị, và mất dấu thì cỡ mẫu yêu cầu là 77 trường hợp.

Số lượng nam giới được chỉ định điều trị bằng liệu pháp chống oxy hoá và đánh giá hiệu quả trước và sau điều trị bao gồm 84 trường hợp.

2.2.3. Các bước tiến hành

Tất cả các trường hợp nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh đến khám đều được giới thiệu, giải thích về nghiên cứu, mục tiêu nghiên cứu, các lợi ích của nghiên cứu có thể mang lại cho bệnh nhân. Những trường hợp đồng ý tham gia vào nghiên cứu sẽ được ký phiếu đồng ý tham gia nghiên cứu (**Phụ lục**) và phiếu cung cấp thông tin và chấp thuận tham gia nghiên cứu (**Phụ lục**) trước khi được thực hiện điều trị. Những trường hợp tuyển chọn vào mẫu nghiên cứu sẽ được tiếp tục thực hiện đánh giá, và chỉ định điều trị nếu thoả mãn tiêu chuẩn lựa chọn điều trị.

Mục tiêu 1

Bước 1. Khai thác thông tin hành chính và tiền sử bệnh lý

Bệnh nhân được khai thác các thông tin chính bao gồm:

- Tuổi bệnh nhân (năm)
- Nghề nghiệp
- Địa dư

- Trình độ học vấn
- Thói quen hút thuốc lá trước đây
- + Mức độ hút thuốc lá: Tính bằng số lượng gói thuốc hút hằng ngày trung bình x thời gian hút thuốc lá theo năm (gói x năm).
- Thói quen uống thức uống có cồn
- Tiền sử bệnh lý nội ngoại khoa liên quan:
 - + Tiền sử quai bị
 - + Tiền sử viêm tinh hoàn
 - + Tiền sử giãn tĩnh mạch tinh
 - + Tiền sử thoát vị bẹn
 - + Tiền sử viêm nhiễm đường sinh dục
 - + Tiền sử phẫu thuật thoát vị bẹn, giãn tĩnh mạch tinh

Bước 2. Khai thác, thăm khám các đặc điểm lâm sàng của chồng

Xác định chỉ số cơ thể

- Chiều cao (cm)
- Cân nặng (kg)
- Xác định BMI (kg/m^2) theo công thức:

$$\text{BMI} = \text{Cân nặng (kg)} / \text{Chiều cao (m)}^2$$
- Đo chu vi vòng bụng và vòng hông
 - + Bệnh nhân đứng hai chân gần nhau, cánh tay thả lỏng hai bên người sao cho trọng lượng cơ thể phân bố đều và mặc quần áo mỏng. Đo chu vi vòng bụng và vòng hông thực hiện ở cuối kỳ thở ra. Chu vi vòng bụng được đo ở điểm giữa bờ dưới xương sườn cuối và đỉnh của mào chậu. Chu vi vòng hông được đo quanh phần lớn nhất của hông, thước dây song song với sàn nhà. Vòng bụng được xác định là tăng khi lớn hơn 90cm.

Đo huyết áp

Đo huyết áp tâm thu (HATT) và tâm trương (HATT_r) bằng máy đo tự động Omron (HEM- 7117-AP), của hãng Omron Healthcare, Kyoto, Nhật Bản. Máy đo huyết áp đã chuẩn hóa trước khi sử dụng và kiểm tra định kỳ trong quá trình nghiên cứu. Phương pháp đo HA như sau:

+ Bệnh nhân thư giãn, ngồi trên ghế hai bàn chân đặt trên sàn và lưng có chỗ dựa. Bệnh nhân nên ngồi nghỉ tại chỗ 3 – 5 phút không nói chuyện hay di chuyển xung quanh.

+ Bệnh nhân nên tránh caffeine, tập thể dục và hút thuốc ít nhất 30 phút trước khi đo.

+ Bệnh nhân nên đi tiểu sạch trước khi đo huyết áp.

+ Bệnh nhân và người thực hiện đo huyết áp không được nói chuyện trong thời gian nghỉ ngơi hoặc khi đo.

+ Bộc lộ vị trí đặt băng quấn. Đỡ cánh tay của bệnh nhân. Đặt phần giữa của băng quấn trên cánh tay bệnh nhân ngang mức tâm nhĩ phải (điểm giữa xương ức).

+ Chọn kích thước băng quấn chính xác sao cho băng quấn bao quanh 75% - 100% cánh tay.

+ Đo HA ở tư thế ngồi, hai chân thả lỏng không bắt chéo, vị trí cánh tay đặt ngang mức tim. Ở lần đo huyết áp đầu tiên, ghi lại huyết áp ở cả hai cánh tay. Sử dụng cánh tay có HA cao hơn cho các lần đo HA tiếp theo.

+ Các lần đo HA cách nhau 1 – 2 phút. Ghi lại HATT và HATT_r đến số chấn gần nhất.

+ Ghi lại thời gian uống thuốc HA gần đây nhất trước khi đo.

+ Lấy giá trị trung bình trên ít nhất 2 lần đo.

Thăm khám cơ quan sinh dục nam

Nam giới được thăm khám hệ cơ quan sinh dục ngoài ở tư thế thẳng đứng, hai tay buông lỏng. Tiến hành đánh giá lần lượt các cấu trúc sau: Dương vật, hai bìu, tinh hoàn hai bên, mào tinh hoàn hai bên, tĩnh mạch tinh hai bên.

+ Dương vật được đánh giá khả năng cương dương, tật hẹp niệu đạo, tình trạng bao quy đầu có hẹp hay không.

+ Hai bìu được quan sát, sờ nắn để phát hiện các bất thường như tính chất đau khi nắn, cảm giác sờ thấy u cục hay không?

+ Tinh hoàn được đánh giá thể tích hai bên theo thước đo Prader, đánh giá tính chất mật độ tinh hoàn, vị trí tinh hoàn, phát hiện tật tinh hoàn ẩn có hay không. Mật độ tinh hoàn được xác định bất thường khi cảm giác chủ quan thăm khám thấy mềm nhão, hoặc xơ cứng.

+ Mào tinh hoàn được đánh giá thể tích hai bên, đánh giá mật độ mào tinh hoàn. Thể tích mào tinh hoàn được xác định bất thường khi cảm giác chủ quan thăm khám thấy xẹp, xác định bình thường khi cảm giác căng đầy. Mật độ được đánh giá bình thường khi sờ nắn thấy chắc, xác định bất thường khi sờ nắn thấy mềm hoặc khó cảm nhận.

+ Tĩnh mạch tinh được thăm khám nhằm phát hiện tình trạng giãn tĩnh mạch tinh có hay không?



Hình 2.1. Thước đo Prader đánh giá thể tích tinh hoàn

Đánh giá chức năng tình dục nam giới

Đánh giá chức năng tình dục tổng thể của bệnh nhân dựa vào thang điểm IIEF-15 (the International Index of Erectile Function - IIEF) gồm 15 câu để đánh giá 5 vấn đề liên quan đến tình trạng cương dương và hoạt động tình dục [128]:

1/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thường cương được dương vật trong lúc hoạt động tình dục hay không?

2/ Trong 4 tuần lễ qua, khi bạn có cương dương vật do kích thích tình dục, dương vật của bạn đủ cương cứng để đưa vào âm đạo không?

3/ Trong 4 tuần lễ qua, khi bạn muốn giao hợp, bạn có đưa được dương vật vào âm đạo người phụ nữ không?

4/ Trong 4 tuần lễ qua, suốt trong lúc giao hợp, bạn có duy trì được độ cương sau khi đã đưa được dương vật vào âm đạo người phụ nữ hay không?

5/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy khó khăn khi duy trì cương dương vật để giao hợp trọn vẹn không?

6/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn ước lượng sự tự tin mà bạn có được trong việc duy trì cương dương vật như thế nào?

7/ Trong 4 tuần lễ qua, có bao nhiêu lần giao hợp?

8/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy thỏa mãn khi giao hợp không?

9/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy thích thú trong khi giao hợp không?

10/ Trong 4 tuần lễ qua khi được kích thích tình dục hay giao hợp, bạn có xuất tinh hay không?

11/ Trong 4 tuần lễ qua khi được kích thích tình dục hay giao hợp, bạn có cảm thấy cực khoái hay không?

12/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có cảm thấy ham muốn tình dục không?

13/ Trong 4 tuần lễ qua, sự ham muốn tình dục của bạn gia tăng đến độ nào?

14/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy hài lòng với cuộc sống tình dục của mình không?

15/ Trong 4 tuần lễ qua, trong quan hệ tình dục với phụ nữ có làm cho người phụ nữ hài lòng không?

Bước 3. Đánh giá cận lâm sàng

Xét nghiệm sinh hóa máu

- Yêu cầu bệnh nhân nhịn đói để định lượng bilan lipid bao gồm Cholesterol toàn phần, Triglycerid, HDL- Cholesterol, và đường máu.

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống nghiệm Serum (không có chất chống đông) và 1ml máu tĩnh mạch vào ống nghiệm Chimigly (chứa Heparin và NaF). Mẫu máu tĩnh mạch sẽ được chuyển về khoa Xét nghiệm, bệnh viện trường Đại học Y Dược Huế để tiến hành định lượng.

- Định lượng lipid máu, glucose máu sẽ được thực hiện trên hệ thống Roche/ Cobas C (Module COBAS 6000/8000, Roche Diagnostics, Indianapolis, Hoa Kỳ).

Đánh giá chức năng sinh sản ở nam giới

**Nội tiết sinh sản nam giới*

- FSH, LH, prolactin và testosterone toàn phần được định lượng bằng phương pháp điện hóa phát quang Immunoassay ECLIA trên máy phân tích xét nghiệm miễn dịch Cobas E (Cobas 6000/8000) do Roche Diagnostics GmbH cung cấp.

**Siêu âm bìu*

- Siêu âm bìu được sử dụng để đánh giá thể tích cả hai tinh hoàn, mật độ tinh hoàn và độ đồng nhất trong siêu âm; Sự hiện diện của giãn tĩnh mạch tinh được đánh giá bằng siêu âm Doppler màu; Chỉ số trở kháng (RI), vận tốc tâm thu đỉnh (PSV, m/s) và chỉ số vận tốc cuối tâm trương (EDV, m/s) của động mạch nhánh trung tâm tinh hoàn được đo bằng Doppler xung.

- Siêu âm bìu và siêu âm Doppler màu được thực hiện trong phòng âm. Bệnh nhân được khám ở tư thế nằm ngửa, dương vật được đặt ở vùng bụng dưới. Chúng tôi sử dụng đầu dò tuyến tính tần số cao (7,5 MHz) cho cả siêu âm thang độ xám và siêu âm Doppler với máy Samsung Medison R5 (Hàn Quốc).

- Tinh hoàn được kiểm tra trong ít nhất hai mặt phẳng dọc theo trục dài và trục ngang, và mỗi tinh hoàn được đo theo ba chiều (chiều dài, chiều rộng, chiều cao). Thể tích của mỗi tinh hoàn được tính theo công thức Lambert:

$$V = L \times W \times H \times 0,71 \text{ [117]}$$

- PSV, EDV và RI {được tính bằng $(PSV-EDV)/PSV$ } đã được đo và tính giá trị trung bình sau khi ghi nhận ba giá trị tại động mạch trong tinh hoàn ở cực tinh hoàn trên, giữa và dưới.

- Đánh giá giãn tĩnh mạch tinh được thực hiện bằng cách đo đường kính lớn nhất và độ trào ngược trong mạch máu trước và sau nghiệm pháp Valsalva.

**Tinh dịch đồ:*

Xử lý mẫu ban đầu

Nam giới sẽ được hướng dẫn kiêng xuất tinh 2-7 ngày và sau đó tiến hành lấy mẫu. Mẫu tinh dịch sau khi xuất cần đặt trong tủ ấm ở 37°C để tạo điều kiện thuận lợi cho việc ly giải. Cần ghi lại thời gian từ khi lấy mẫu đến khi bắt đầu đánh giá, tốt nhất cần phân tích mẫu trong vòng 30 – 60 phút để tránh hiện tượng mất nước hay

những tác động của nhiệt độ và môi trường bên ngoài làm ảnh hưởng đến chất lượng tinh trùng.

Đánh giá đại thể

Đánh giá đại thể bao gồm các đánh giá về sự ly giải, màu sắc, độ nhót, thể tích và độ pH.

- Sự ly giải: Thời gian ly giải thường thay đổi từ 15 - 30 phút. Nếu chưa ly giải sau 30 phút, nên chờ thêm 30 phút ở nhiệt độ phòng hoặc trong tủ ấm 37°C.

- Sự biểu hiện và màu sắc

+ Bình thường: mẫu tinh dịch đồng nhất, màu trắng hoặc xám đục.

+ Tinh dịch màu vàng: mẫu nhiễm trùng, có thể lẫn nước tiểu, vàng da hoặc do đang uống một số loại vitamin, thuốc.

+ Tinh dịch có màu đỏ nâu hoặc hồng: mẫu có lẫn hồng cầu.

+ Tinh dịch loãng, trắng trong: thường là thiếu tinh hoặc vô tinh.

- Đánh giá độ nhót của mẫu

Sử dụng một pipette có đường kính khoảng 1,5 mm hút một phần mẫu tinh dịch, cho nhỏ giọt tự nhiên xuống lam kính và quan sát sự kéo dài của giọt.

+ Bình thường: giọt tinh dịch nhỏ riêng lẻ từng giọt.

+ Bất thường: tinh dịch dính chặt vào nhau, khi cố dùng pipette hút lên, giọt tinh dịch kéo dài trên 2 cm.



Hình 2.2. Độ nhót cao của mẫu tinh dịch

Thể tích

Đo bằng cách cân mẫu: đây là cách xác định thể tích tinh dịch tốt nhất và thực hiện như sau:

- Cân lọ trước khi lấy mẫu.
- Cân lọ có đựng mẫu.
- Trừ đi trọng lượng của lọ.
- Tính thể tích của mẫu là số gam tinh dịch. (Khối lượng riêng tinh dịch dao động trong khoảng 1043 và 1102 g/mL).

Độ pH tinh dịch

Cách xác định pH tinh dịch:

+ Trộn đều mẫu sau đó nhỏ một giọt tinh dịch lên giấy quỳ. Đợi một thời gian (< 30 giây) cho màu giấy quỳ đồng nhất và đọc kết quả bằng cách so với dải màu chuẩn.

+ Theo quy ước WHO, mẫu tinh dịch bình thường có pH từ 7,2 trở lên [163]. Độ pH bất thường có thể do rối loạn chức năng của các tuyến. Đối với các mẫu tinh dịch có độ pH nhỏ hơn 7,0 kèm thể tích tinh dịch và số lượng tinh trùng ít, nguyên nhân có thể do tắc hoặc bất sản ống dẫn tinh bẩm sinh. Độ pH của tinh dịch tăng theo thời gian do khả năng đệm tự nhiên giảm.

Đánh giá sự di động của tinh trùng

Khả năng di động là một trong những thông số quan trọng nhất khi đánh giá chất lượng tinh trùng vì nó liên quan đến khả năng thụ tinh của tinh trùng. Tinh trùng được đánh giá các mức di động khác nhau gồm: di động tiến tới nhanh, di động tiến tới chậm, di động tại chỗ, và bất động.

Theo hướng dẫn của WHO năm 2010 [163] tinh trùng di động được chia làm 3 loại theo vận tốc và mô hình chuyển động, bao gồm:

- + Tinh trùng tiến tới (PR): tinh trùng di chuyển tiến tới theo đường thẳng hoặc thành một vòng tròn lớn, bao phủ một khoảng cách từ điểm bắt đầu đến điểm cuối.
- + Tinh trùng di động tại chỗ (NP): tinh trùng chuyển động đuôi với các kiểu khác nhau nhưng không có sự tiến tới, tức là bơi trong những vòng tròn nhỏ, vận tốc

di chuyển dưới 5 $\mu\text{m/s}$ (tương ứng với chiều dài đầu), kể từ điểm bắt đầu điểm đến điểm cuối cùng.

+ Tinh trùng bất động (IM): tinh trùng không có cử động đuôi.

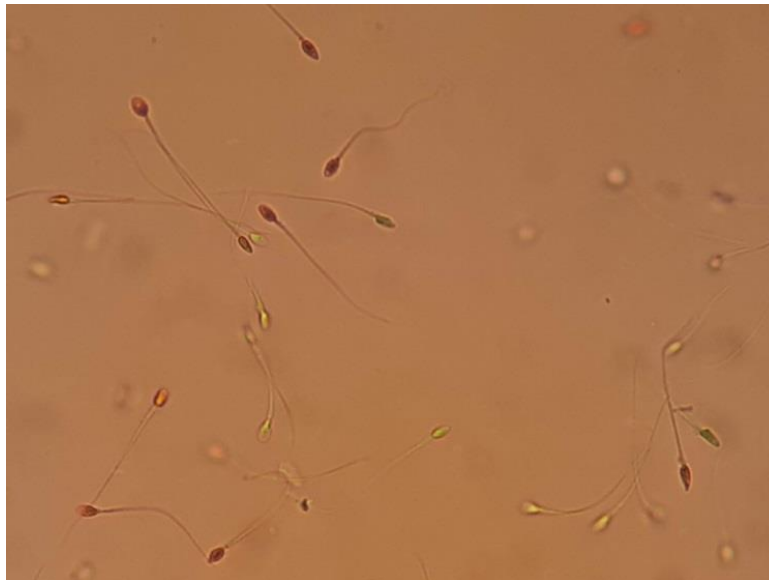
Tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới ít hơn 32% được phân loại là tinh trùng yếu (asthenozoospermia).

Đánh giá tỷ lệ sống của tinh trùng

- Tỷ lệ tinh trùng sống được tính bằng cách đánh giá tính toàn vẹn của màng tế bào, có thể đánh giá trong mỗi lần xuất tinh, nhưng không cần thiết khi mẫu tinh dịch có ít nhất 40% tinh trùng di động. Tỷ lệ tinh trùng sống rất quan trọng đối với lâm sàng trong trường hợp tinh trùng bất động hoàn toàn.

- Tỷ lệ tinh trùng sống nên được đánh giá càng sớm càng tốt sau khi mẫu tinh dịch ly giải, tốt nhất là trong vòng 30 phút đến 1 giờ kể từ khi xuất tinh để hạn chế ảnh hưởng của mất nước hay thay đổi nhiệt độ.

- Hiện nay có nhiều phương pháp khác nhau được sử dụng để đánh giá sức sống tinh trùng. Phương pháp thuốc nhuộm eosin-nigrosin được sử dụng nhằm đánh giá tinh trùng sống.



Hình 2.3. Hình ảnh tiêu bản tinh trùng với eosin quan sát dưới kính hiển vi.

A: tinh trùng có đầu màu đỏ hoặc hồng sẫm được coi là đã chết;

B: tinh trùng có đầu màu trắng được coi là còn sống

Đánh giá mật độ tinh trùng

- Mật độ tinh trùng được xác định bằng số lượng tinh trùng trên một đơn vị thể tích tinh dịch của mỗi lần xuất tinh.

- Chỉ đếm những tinh trùng nguyên vẹn (có đầu và đuôi). Việc đếm tinh trùng được xác định bởi vị trí đầu tinh trùng trong khu vực ô vuông được đếm, hướng đuôi tinh trùng không quan trọng.

Hình thái tinh trùng

- Mẫu tinh dịch sau ly giải được nhỏ 5 - 10 μ l tùy thuộc vào mật độ tinh trùng lên một phần của lam kính sạch. Dùng cạnh của lam kính khác để kéo giọt tinh dịch dọc theo bề mặt của lam kính phết. Để lam kính đã quét khô tự nhiên trong không khí và tiến hành nhuộm lam. Khi các phần trải tinh dịch đã được làm khô trong không khí, tiến hành cố định và nhuộm màu để làm nổi bật các chi tiết của tinh trùng.

- Lam hình thái được quan sát dưới kính hiển vi quang học với vật kính dầu x1000. Đánh giá hình thái tinh trùng ở nhiều vi trường khác nhau với tối thiểu 200 tinh trùng và không cần đánh giá lặp lại.

- Tinh trùng được xác định là có hình thái bình thường khi phần đầu, cổ, phần giữa và phần đuôi đều bình thường

Bảng 2.1. Đánh giá kết quả tinh dịch đồ

Chỉ số	Giá trị bình thường WHO 2010 [163]
Thể tích	$\geq 1,5$ mL
pH	$\geq 7,2$
Sống sót	$\geq 58\%$ tinh trùng sống
Độ di động	$\geq 32\%$ tinh trùng di động tiến tới
Mật độ tinh trùng	$\geq 15 \times 10^6$ tinh trùng/mL
Hình thái tinh trùng	$\geq 4\%$ tinh trùng có hình thái bình thường
Bạch cầu	$\leq 1 \times 10^6$ /mL

**Phân tích đứt gãy DNA tinh trùng bằng phương pháp phân tán chất nhuộm sắc*

Sự phân mảnh DNA tinh trùng đánh giá bằng bộ kit Halosperm® (Halotech DNA SL, Madrid, Tây Ban Nha).



Hình 2.3. Bộ Kit sản phẩm Halosperm®

(Halotech DNA SL, Madrid, Tây Ban Nha)

- Đun chảy agarose tinh sạch ở 95-100°C trong 5 phút hoặc cho đến khi tan chảy hoàn toàn. Ước tính lượng agarose cần dùng rồi cho vào ống sạch và giữ ở 37°C trong 5 phút để tránh quá trình đông gel cũng như tránh sự tác động nhiệt lên tế bào khi trộn mẫu. Sau khi lấy lượng agarose cần thiết, phần còn lại trong ống sẽ được bảo quản trong tủ lạnh cùng với bộ dụng cụ.

- Dung dịch DA và LYSIS được đưa ra ở nhiệt độ phòng (22°C) trong toàn bộ quy trình.

- Điều chỉnh mật độ tinh trùng của mẫu tinh dịch. Có thể sử dụng mẫu tinh dịch tươi sau khi ly giải hoặc rã đông mẫu tinh dịch đã trữ lạnh. Mẫu được pha loãng với đệm PBS để được mật độ tối đa là 20×10^6 tinh trùng/ml. Sau đó, lấy 50 μ l mẫu tinh dịch trên cho vào ống chứa agarose và trộn nhẹ bằng pipette, tránh tạo bọt khí.

- Nhỏ một giọt 8 μ l hỗn hợp trên vào giữa ô “S” (sample - mẫu) của lam kính đã tráng agarose. Đặt lamên bằng kẹp. Ấn nhẹ nhàng, tránh tạo bọt khí. Lam kính

phải được giữ nằm ngang trong toàn bộ quá trình. Đặt lam kính trên bề mặt lạnh (ví dụ như đĩa kim loại hoặc thủy tinh đã làm lạnh trước ở 4°C) và chuyển vào tủ lạnh ở 4°C trong 5 phút để agarose đông đặc. Chuẩn bị dung dịch biến tính DA bằng cách thêm 80 μ l dung dịch DA gốc vào 10 ml nước cất, lắc đều và cho vào khay chứa.

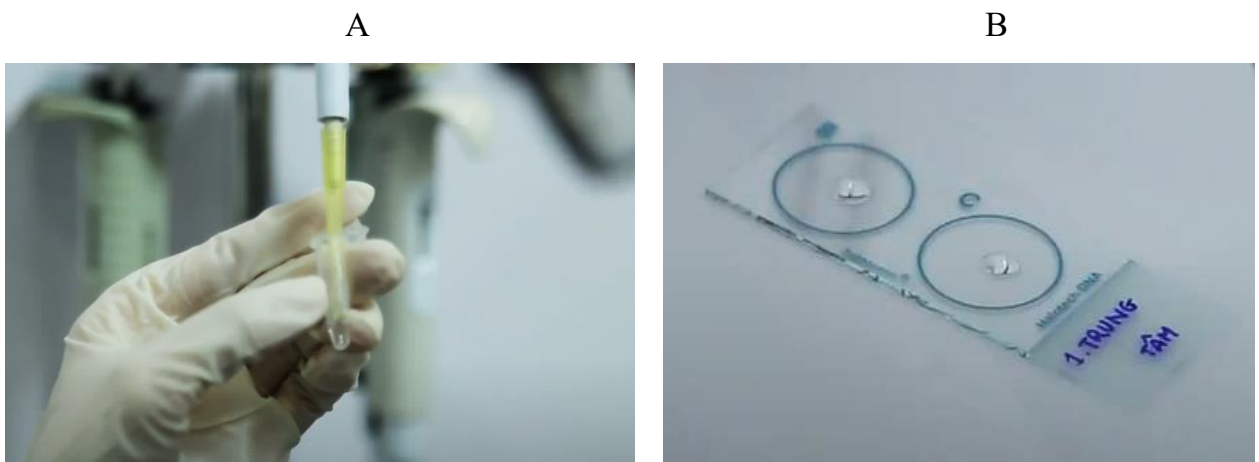
- Lấy lam kính ra khỏi tủ lạnh và tháo lamen bằng cách trượt nhẹ nhàng theo chiều ngang. Các quá trình tiếp theo tiến hành ở nhiệt độ phòng (22°C). Nhúng lam kính nằm ngang vào khay chứa dung dịch biến tính DA trong 7 phút ở nhiệt độ phòng. Chuyển lam kính qua khay chứa dung dịch ly giải LYSIS và ủ trong 25 phút ở nhiệt độ phòng.

- Rửa lam kính trong nước cất trong 5 phút để loại bớt dung dịch LYSIS. Khử nước bằng cách cho lam kính ủ vào ethanol 70% và 100% trong 2 phút mỗi lần.

- Để khô ở nhiệt độ phòng theo chiều nằm ngang. Sau khi khô, có thể bảo quản các lam kính trong hộp tối và lưu trữ ở nhiệt độ phòng trong nhiều tháng.

- Tiến hành nhuộm và kiểm tra mẫu dưới kính hiển vi quang học với vật kính 40x hoặc vật kính dầu 100x. Đọc tối thiểu 300 tinh trùng cho mỗi mẫu.

- Tính tỷ lệ tinh trùng có DNA phân mảnh. Ngưỡng chỉ số phân mảnh DNA của tinh trùng (SDF) được khuyến cáo theo nhà sản xuất.



Hình 2.4. Chuẩn bị mẫu đánh giá phân mảnh DNA tinh trùng bằng phương pháp SCD.

A: Mẫu tinh dịch được trộn đều trong agarose.

B: Mẫu tinh dịch sau khi trộn trong agarose được đặt trên lam.

Cách đánh giá kết quả [93]

Kết quả được phân tích bởi đồng thời 2 chuyên viên phôi học và tiến hành lưu trữ bằng hình ảnh. Trường hợp nếu có sự khác biệt về kết quả sẽ được đánh giá lại một lần nữa thông qua hình ảnh đã lưu trữ để đưa ra kết quả cuối cùng.

- Tinh trùng không phân mảnh DNA:

+ Tinh trùng quầng halo lớn (loại A): là những tinh trùng có chiều rộng quầng bằng hoặc lớn hơn đường kính của nhân.

+ Tinh trùng quầng halo trung bình (loại B): kích thước quầng của chúng nằm giữa loại có quầng lớn và loại có quầng rất nhỏ (chiều rộng quầng từ $\frac{1}{3}$ đến 1 lần đường kính nhân) .

- Tinh trùng có DNA phân mảnh:

+ Tinh trùng quầng halo nhỏ (loại C): chiều rộng quầng bằng hoặc nhỏ hơn $\frac{1}{3}$ đường kính của nhân.

+ Tinh trùng không có quầng halo (loại D): tinh trùng không có quầng, nhân không đều màu và vẫn bắt màu thuốc nhuộm.

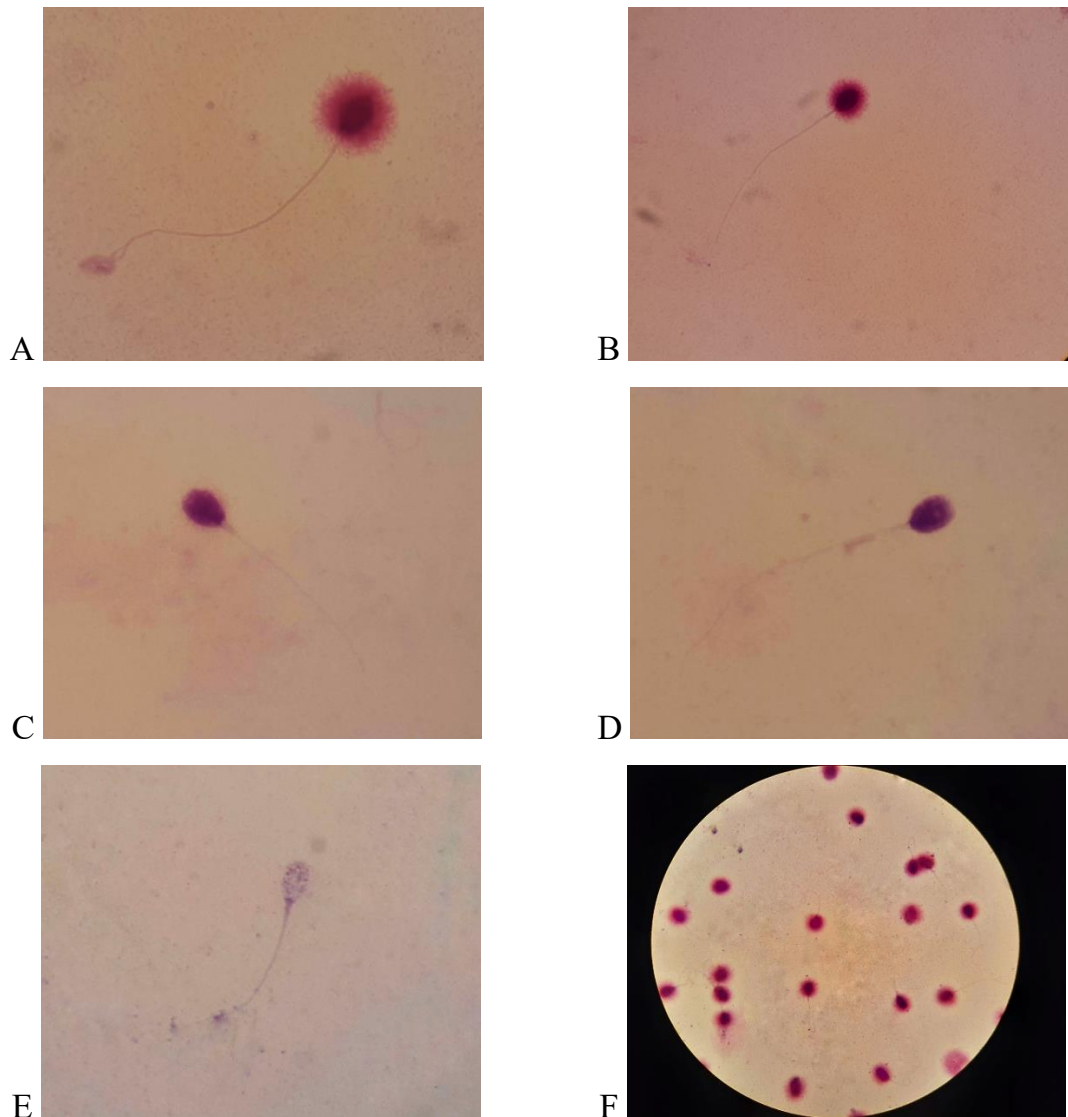
+ Tinh trùng thoái triển (loại E): những tinh trùng không có quầng và nhân không đều hoặc bắt màu thuốc nhuộm ít.

- Công thức tính chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng (DFI):

$$DFI (\%) = \frac{\text{Tinh trùng có DNA phân mảnh (C+D+E)}}{\text{Tổng tinh trùng đếm được (A+B+C+D+E)}} \times 100$$

Tổng số tinh trùng đếm được tối thiểu là 300 con.

- Nam giới bình thường có chỉ số $DFI \leq 15\%$; nam giới có DFI từ 15% đến 30% có mức độ phân mảnh DNA tinh trùng nhẹ; nam giới có $DFI > 30\%$ có mức độ phân mảnh DNA nặng và khả năng sinh sản thấp.



Hình 2.5. Hình ảnh các loại tinh trùng với quầng halo khác nhau trên vi trường

A. Tinh trùng halo lớn; B. Tinh trùng halo trung bình; C. Tinh trùng halo nhỏ; D. Tinh trùng không có quầng halo; E. Tinh trùng thoái triển; F. Vi trường đánh giá tinh trùng với quầng halo khác nhau

**Đánh giá stress oxy hoá bằng phương pháp đo cân bằng thế oxy hoá khử:*

Hệ thống MiOXSYS được sử dụng để đánh giá khả năng oxy hóa - khử tinh (ORP) và đo stress oxy hóa trong một mẫu tinh dịch.



Hình 2.6. Hệ thống MiOXSYS đo ROS

- Mẫu tinh dịch được lấy theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế thế giới và đọt ly giải để tiến hành phân tích tinh dịch. Các mẫu phải được kiểm tra trong vòng một giờ sau khi ly giải. Tất cả mẫu tinh dịch trong nghiên cứu đều sử dụng mẫu tươi để tiến hành đánh giá.

- Để đảm bảo độ chính xác của thiết bị, người dùng phải tiến hành hiệu chuẩn khi lắp đặt hoặc sau mỗi tháng với khóa xác minh hiệu chuẩn (CVK). Các bước hiệu chuẩn được thực hiện như sau:

- Nhấn nút nguồn trên máy MiOXSYS Analyzer. Chữ “MiOXSYS” và ngày giờ sẽ xuất hiện trên màn hình hiển thị trong 3 giây. Chèn CVK vào khe cảm biến với mặt A hướng lên trên. Máy MiOXSYS Analyzer sẽ cho biết rằng kiểm tra hiệu chuẩn đang được thực hiện ở mặt A. Khi xác minh hoàn tất, kết quả sẽ được hiển thị theo thứ tự sau: $ORP = 100,3mV$ và $ICell = -100,0 nA$.



Hình 2.7. Kiểm tra hiệu chuẩn với USB kiểm chuẩn 2 mặt A, B

Quá trình chèn cảm biến và nạp mẫu

- Lấy thanh cảm biến dùng một lần, giữ cảm biến ở 2 cạnh bên và mặt load mẫu hướng lên trên.
- Căn chỉnh đầu cắm với ổ cắm cảm biến trên MiOXSYS Analyzer. Đảm bảo rằng cảm biến được lắp chính xác và tiếp xúc tốt trước khi tiếp tục quy trình kiểm tra.



Hình 2.8. Lắp cảm biến vào ổ cắm cảm biến trên máy

- Cảm biến được gắn vào thiết bị sẽ báo “Waiting for sample” trên màn hình hiển thị và đồng hồ sẽ đếm ngược trong 2 phút.
- Sử dụng pipette để lấy 30 μ l mẫu. Mẫu được sử dụng để phân tích có thể là tinh dịch tươi hoặc đông lạnh, nhưng phải ở nhiệt độ phòng (22°C) khi thực hiện xét nghiệm.
- Đưa mẫu vào cổng chấm mẫu trên cảm biến MiOXSYS đã lắp vào. Đảm bảo rằng toàn bộ cổng được che phủ bởi mẫu. Thời gian đánh giá mẫu phải đảm bảo không quá 2 phút để tránh phát sinh lỗi. Khi mẫu đã lấp đầy và mao dẫn đến ô tham chiếu của cảm biến, quá trình đọc điện thế mẫu bắt đầu. Khi đó, màn hình sẽ hiển thị “Processing sample” và thời gian còn lại.
- Nếu xảy ra lỗi trong quá trình phân tích, mã lỗi sẽ xuất hiện trên màn hình hiển thị và đèn LED cảnh báo màu đỏ sẽ sáng. Hãy ghi lại lỗi đọc và làm theo hướng dẫn trên màn hình để xử lý lỗi.



Hình 2.9. Nạp 30 μ l mẫu vào cổng chấm mẫu trên cảm biến

- Sau vài phút chạy mẫu, kết quả sẽ hiển thị trên màn hình.

Cách đánh giá kết quả

- Kết quả được đưa ra là tham số “ORP tĩnh” (mV). Giá trị này nên được chuẩn hóa cho mật độ tinh trùng trong mẫu tinh dịch (ORP đã hiệu chỉnh). Thông số cho thấy ước tính về lượng chất chống oxy hóa được biểu thị bằng mV/ 10^6 tinh trùng/ml.

- Ngưỡng ORP bình thường chọn mốc 1,34 mV/1 triệu tinh trùng/mL dựa theo nghiên cứu đa trung tâm với cỡ mẫu lớn của tác giả Agarwal và cộng sự năm 2019 [19]:

- + ORP > 1,34 mV/1 triệu tinh trùng/mL được xác định có stress Oxy hoá.
- + ORP $\leq$ 1,34 mV/1 triệu tinh trùng/mL được xác định không có stress Oxy hoá.

Mục tiêu 2

Bước 4. Can thiệp bằng thuốc chống oxy hoá

- Các bệnh nhân nam từ các cặp vợ chồng vô sinh thoả mãn tiêu chuẩn điều trị sẽ được tư vấn điều trị bằng phác đồ chống oxy hoá.

- Sau khi được tư vấn về quá trình điều trị bằng liệu pháp chống oxy hoá về giá thành điều trị và thời gian, bệnh nhân đồng ý tham gia vào nghiên cứu sẽ được tiến hành điều trị theo phác đồ chất chống oxy hoá tổng hợp.

- Sử dụng phác đồ điều trị bằng Profortil (Abbott, USA) 02 viên/ngày trong 3 tháng với hàm lượng các chất chống oxy hoá như sau:

- + L-Carnitine (220mg)
- + L-Arginine (125mg)
- + Vitamin E (60mg)

- + Kẽm (dạng kẽm citrate) (20mg)
- + L-Glutathion (40mg)
- + Coenzyme Q10 (7.5mg)
- + Acid Folic (400 mcg)
- + Selen (30mg)

- Profortil đã được Cục An toàn thực phẩm - Bộ Y tế xác định tính an toàn trong sử dụng và cấp phép sử dụng làm Thực phẩm bảo vệ sức khoẻ theo quyết định số 14418/2017/ATTP-XNCB.

- Liệu trình điều trị trong vòng 3 tháng liên tục, và phải đảm bảo không được sử dụng thuốc ngắt quãng hoặc quên uống thuốc. Các yếu tố lối sống nếu có sự thay đổi cần được báo cho nghiên cứu viên.

- Tất cả bệnh nhân tham gia can thiệp đều được tư vấn các thông tin dành cho người tham gia, nếu đồng ý, ký chấp thuận tham gia vào nghiên cứu.

- Một số bệnh nhân sau khi tham gia vào mục tiêu 1 đã không tiếp tục tham gia vào mục tiêu 2 do các lí do sau: không đủ thông tin nghiên cứu, không đồng ý tham gia tiếp vì mong muốn được hỗ trợ sinh sản ngay, một số bệnh nhân có thai tự nhiên sau khi thăm khám ban đầu.

Bước 5. Theo dõi kết quả can thiệp

- Theo dõi quá trình sử dụng thuốc theo phác đồ, loại khỏi nhóm nghiên cứu những trường hợp không sử dụng thuốc đúng theo phác đồ hoặc có tác dụng phụ không thể tiếp tục điều trị.

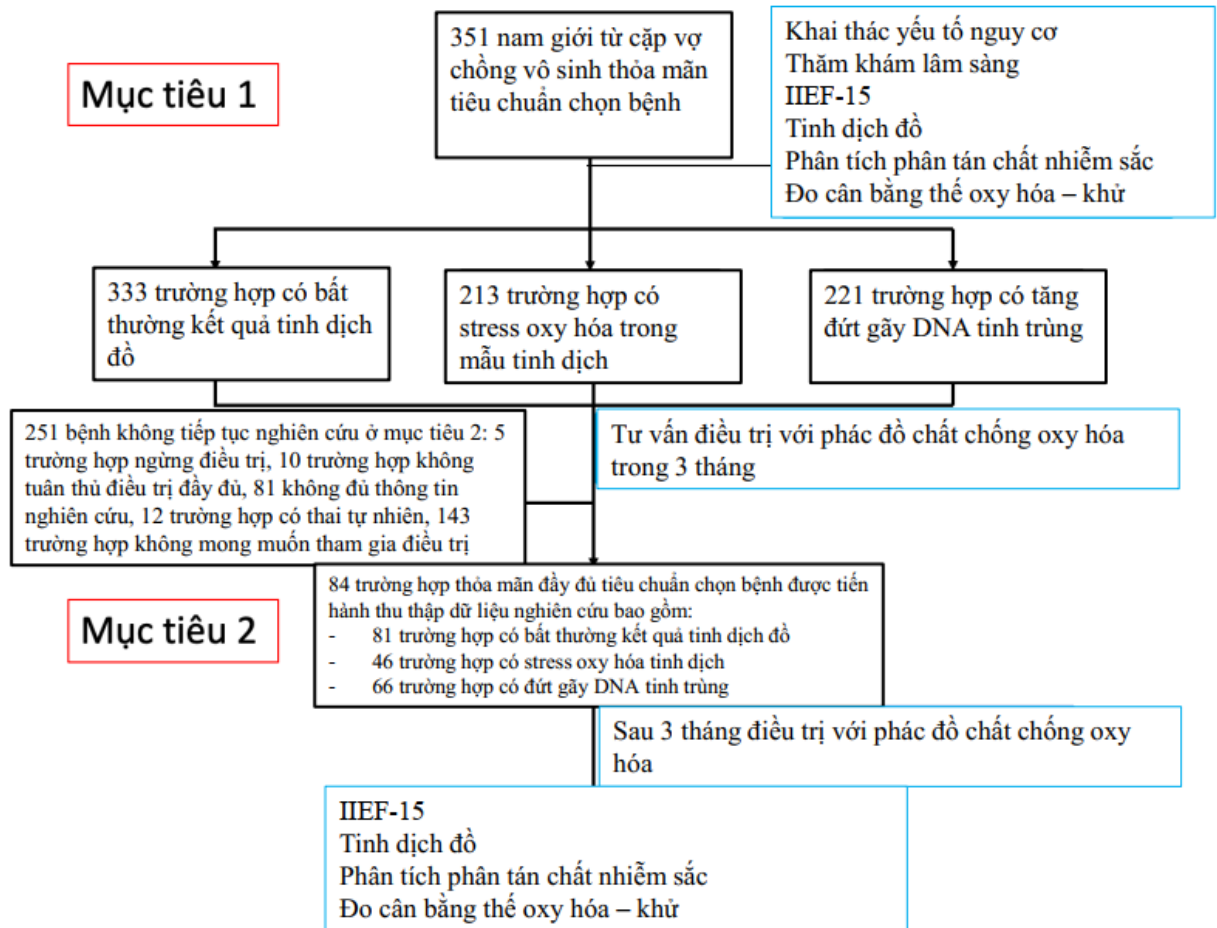
- Sau 3 tháng điều trị bằng phác đồ chất chống oxy hoá, bệnh nhân sẽ được tái khám tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y-Dược Huế.

- Khai thác các đặc điểm về hoạt động tình dục thông qua bộ câu hỏi IIEF-15 sau điều trị.

- Thực hiện phương pháp thăm dò tinh dịch đồ sau điều trị.

- Thực hiện phương pháp đánh giá đứt gãy DNA bằng phương pháp phân tán chất nhiễm sắc sau điều trị.

- Thực hiện phương pháp đánh giá stress oxy hoá trong mẫu tinh dịch bằng phương pháp đo cân bằng thể oxy hoá - khử sau điều trị.



Sơ đồ 2.1. Quy trình thực hiện nghiên cứu*

*Mục tiêu 1: Khảo sát ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng dựa vào kết quả tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng ở các trường hợp vô sinh.

Mục tiêu 2: Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hoá lên một số chỉ số chất lượng tinh trùng.

2.2.4. Phương tiện nghiên cứu

Phương tiện đánh giá lâm sàng

- Phiếu nghiên cứu in sẵn.
- Cân bàn có thước đo chiều cao
- Máy đo huyết áp tự động Omron (HEM-7117-AP), của hãng Omron Healthcare, Kyoto, Nhật Bản.

- Thước dây có vạch chia centimet.
- Thước đo Prader.

Phương tiện thăm dò cận lâm sàng

- Máy phân tích xét nghiệm miễn dịch Cobas E (Cobas 6000/8000) của hãng Roche Diagnostics GmbH.
- Máy phân tích xét nghiệm Roche/Cobas C (Module Cobas 6000/8000) của hãng Roche Diagnostics, Indianapolis, Hoa Kỳ.
- Kính hiển vi, buồng đếm tinh trùng.
- Máy quay ly tâm, tủ cấy 37°C và 5% CO₂.
- Bộ kit Halosperm®, công ty Halotech DNA SL, Madrid, Tây Ban Nha.
- Agarose 1%.
- Dung dịch biến tính (Denaturant Agent - DA): dung dịch acid clohydric (HCl 0,08 N).
- Dung dịch ly giải (Lysis Solution - LS): chứa Dithiothreitol và Triton X-100.
- Nước cất, ethanol 70%, ethanol 100%
- Kính hiển vi quang học, tủ lạnh 4°C, máy ủ nhiệt 95°C
- Lam kính phủ agarose 0,65%; lamén (24 x 24 mm); đĩa hoặc khay nhuộm
- Hệ thống máy đo cân bằng thể Oxy hoá - Khử MiOXSYS, công ty CaerusBiotech, Geneva, Switzerland.
- Máy phân tích tinh trùng tự động X12 PRO (LensHooke, Đài Loan).

2.3. CÁC BIẾN SỐ NGHIÊN CỨU

2.3.1. Danh sách các biến số nghiên cứu

Bảng 2.2. Mô tả các biến số nghiên cứu chính của nghiên cứu

STT	Biến số	Phân loại	Giá trị/đơn vị
1	Tuổi	Liên tục	Năm <30 30-39 40-49 ≥50
2	Nghề nghiệp	Danh định	Lao động trí óc Lao động chân tay Khác
3	Nơi ở	Nhị phân	Thành thị

			Nông thôn
4	Phân loại vô sinh	Nhị phân	Vô sinh nguyên phát Vô sinh thứ phát
5	Tiền sử hút thuốc lá, rượu bia	Nhị phân	Có Không
6	BMI	Định lượng	Kg/m ²
7	Vòng bụng, vòng hông, vòng bụng/vòng hông	Định lượng	Cm
8	Đặc điểm mào tinh hoàn Đặc điểm tinh hoàn	Nhị phân	Bình thường Bất thường
9	Thể tích tinh hoàn	Định lượng	mL
10	Mắc giãn tĩnh mạch tinh	Danh định	Không mắc Độ 1 Độ 2 Độ 3
11	Thang điểm IIEF-15	Định lượng	Điểm
12	RI	Định lượng	Trở kháng động mạch trung tâm
13	PSV	Định lượng	cm/s
14	EDV	Định lượng	cm/s
15	FSH	Định lượng	mIU/mL
16	LH	Định lượng	mIU/mL
17	Testosterone	Định lượng	ng/mL
18	Glucose	Định lượng	mmol/L
19	Cholesterol	Định lượng	mmol/L
20	Triglycerid	Định lượng	mmol/L
21	HDL-C	Định lượng	mmol/L
22	Mắc hội chứng chuyển hóa	Nhị phân	Có Không
23	ORP	Liên tục	mV/triệu tinh trùng/mL >1,34 ≤1,34
24	Thể tích tinh dịch	Định lượng	mL
25	Tỷ lệ tinh trùng di động	Định lượng	% ≥ 32

			< 32
26	Tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường	Định lượng	% ≥ 4 <4
27	Mật độ tinh trùng	Định lượng	Triệu tinh trùng/mL ≥15 <15
28	Tỷ lệ tinh trùng sống	Định lượng	% ≥58 <58
29	Tỷ lệ tinh trùng bất thường đầu, cổ đuôi	Định lượng	%
30	Kết quả tinh dịch đồ	Nhị phân	Bình thường Bất thường
31	Tinh trùng quầng halo lớn	Định lượng	Số tinh trùng
32	Tinh trùng quầng halo trung bình	Định lượng	Số tinh trùng
33	Tinh trùng quầng halo nhỏ	Định lượng	Số tinh trùng
34	Tinh trùng không có quầng halo	Định lượng	Số tinh trùng
35	Tinh trùng thoái triển	Định lượng	Số tinh trùng
36	DFI	Định tính	% ≤15% 15-30% >30%

2.3.2. Tiêu chuẩn một số biến số nghiên cứu

Đặc điểm chung

- Định nghĩa vô sinh theo Tổ chức Y tế thế giới: một cặp vợ chồng được gọi là vô sinh khi sống cùng nhau trên 12 tháng, quan hệ tình dục đều đặn, không sử dụng biện pháp tránh thai nào mà vẫn không có con [164].

- Phân loại vô sinh:

+ Vô sinh nguyên phát (Vô sinh I): hai vợ chồng chưa bao giờ có thai, mặc dù đã sống với nhau trên một năm, quan hệ tình dục đều đặn và không dùng biện pháp tránh thai nào.

+ Vô sinh thứ phát (Vô sinh II): khi hai vợ chồng trước kia đã có con hoặc có thai (sảy thai) nhưng sau đó không thể có thai lại mặc dù đang sống với nhau trên một năm và không dùng biện pháp tránh thai nào.

- Địa dư:

+ Thành thị: những vị trí tập trung đông dân cư, bao gồm các quận nội thành, các phường nội thị, và thị trấn.

+ Nông thôn: những vị trí ngoài vùng thành , khu vực địa giới hành chính không bao gồm địa bàn phường thuộc thị xã, quận và thành phố.

- Thói quen hút thuốc lá, rượu bia: bao gồm những trường hợp có hút thuốc lá, và uống rượu bia thường xuyên hàng tuần trong vòng 1 năm.

- Lao động:

+ Lao động trí óc: những người lao động trí óc thường làm việc trong các lĩnh vực như văn phòng, quản lý, nghiên cứu, và các ngành nghề chuyên môn khác.

+ Lao động chân tay: những người lao động có công việc chủ yếu làm bằng tay hoặc vận động chân tay nhiều, là những người thực hiện công việc thủ công, lao động nặng nhọc, hoặc những công việc đòi hỏi sự linh hoạt và kỹ năng thủ công cao.

+ Lao động khác: Bao gồm người lao động không thuộc 2 nhóm lao động trí óc, và lao động chân tay.

- Phân loại BMI theo tiêu chuẩn của Tổ chức y tế thế giới dành cho dân số châu Á:

Bảng 2.3. Phân loại BMI của WHO cho người Châu Á [167]

Phân loại	BMI (kg/m²)
Nhẹ cân	<18,5
Bình thường	18,5 - 22,9
Thừa cân	23,0 - 24,9
Béo phì	≥ 25

- Mật độ tinh hoàn bất thường được xác định khi thăm khám chủ quan cảm nhận mật độ mềm nhão, hoặc xơ cứng; mật độ mào tinh hoàn bất thường được xác định khi thăm khám cảm nhận xẹp, không căng phồng.

- Định nghĩa hội chứng chuyển hoá ở nam giới theo tiêu chuẩn của Hiệp hội bệnh tim - phổi - máu của viện Quốc gia Hoa Kỳ (NHLBI/AHA ATPIII) [34]. Hội chứng chuyển hoá được chẩn đoán khi tồn tại ít nhất 3 trong 5 tiêu chuẩn sau đây:

- + Tăng vòng bụng ≥ 90 cm
- + Tăng Triglycerides $\geq 1,7$ mmol/L và/hoặc đang điều trị thuốc mỡ máu
- + HDL-C giảm $< 1,03$ mmol/L và/hoặc đang điều trị thuốc mỡ máu
- + Huyết áp tâm thu tăng $\geq 130/85$ mmHg và/hoặc tiền sử tăng huyết áp
- + Đường máu đói tăng $\geq 5,6$ mmol/L và/hoặc tiền sử chẩn đoán đái tháo đường
- Tăng Prolactin máu nếu nồng độ Prolactin huyết thanh > 530 mIU/mL (25 ng/mL).
- Giảm testosterone được xác định khi nồng độ testosterone huyết thanh < 3 ng/dL.
- Phân độ giãn tĩnh mạch tinh theo phân loại Dubin [43]:

***Giãn tĩnh mạch tinh cấp độ 1:** bệnh giãn tĩnh mạch tinh không có biểu hiện lâm sàng. Nam giới chỉ có thể phát hiện bệnh lý này thoáng qua khi làm nghiệm pháp Valsalva.

***Giãn tĩnh mạch tinh cấp độ 2:** có thể phát hiện tình trạng giãn tĩnh mạch tinh khi sờ nắn.

***Giãn tĩnh mạch tinh cấp độ 3:** có thể phát hiện tình trạng giãn tĩnh mạch tinh ngay cả khi quan sát từ bên ngoài, chưa cần thiết thực hiện thăm khám bằng tay.

Mục tiêu 1 và mục tiêu 2:

- Đánh giá rối loạn chức năng tình dục tổng thể ở nam giới

Mỗi câu hỏi sẽ được trả lời từ thang điểm 0 - 5 điểm. Tổng điểm sẽ được đánh giá theo các mốc sau đây:

- + 6-20 điểm: mức độ nặng
- + 21-30: Mức độ trung bình
- + 31-59: Mức độ nhẹ
- + 60-75: Không có rối loạn

- Đánh giá các thành phần của rối loạn chức năng tình dục ở nam giới [128].

Thang điểm IIEF được phân chia thành 5 lĩnh vực khác nhau như sau:

+ Rối loạn cương dương (Câu hỏi 1-6): Tổng điểm < 25 điểm được xác định có tình trạng rối loạn cương dương.

+ Thoả mãn về giao hợp (Câu hỏi 7-8-9): Tổng điểm < 13 điểm được xác định có suy giảm về sự thoả mãn giao hợp.

+ Đặc điểm về khả năng đạt sự cực khoái (Câu hỏi 10 và 11): Tổng điểm < 9 điểm được xác định suy giảm về sự cực khoái.

+ Đặc điểm về sự ham muốn tình dục (Câu hỏi 12 và 13): Tổng điểm < 9 điểm được xác định suy giảm ham muốn tình dục.

+ Đặc điểm về sự thoả mãn toàn diện đời sống tình dục (Câu hỏi 14 và 15): Tổng điểm < 9 điểm được xác định giảm sút sự thoả mãn về đời sống tình dục.

- Tinh dịch đồ được đánh giá bình thường khi thoả mãn các tiêu chuẩn của WHO 2010 [163]. Kết quả tinh dịch đồ bất thường được xác định khi có một trong các thông số của tinh dịch đồ bất thường (mật độ, tỷ lệ tinh trùng di động, tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường, tỷ lệ tinh trùng sống).

- Một số thuật ngữ sử dụng trong tinh dịch đồ:

+ Normozoospermia (tinh dịch đồ bình thường): có từ 32% trở lên tinh trùng di động tiến tới, mật độ tinh trùng từ $15 \times 10^6/\text{mL}$ trở lên và từ 4% trở lên tinh trùng có hình thái bình thường.

+ Asthenozoospermia (tinh trùng yếu): tinh trùng di động tiến tới dưới 32%.

+ Oligozoospermia (tinh trùng ít): mật độ tinh trùng dưới $15 \times 10^6/\text{mL}$.

+ Severe Oligozoospermia (thiếu tinh nặng): mật độ tinh trùng dưới $5 \times 10^6/\text{mL}$.

+ Teratozoospermia (tinh trùng dị dạng): tinh trùng có hình thái bình thường dưới 4%.

+ Oligoasthenoteratozoospermia (tinh trùng ít, yếu, dị dạng): mật độ dưới $15 \times 10^6/\text{mL}$, dưới 32% tinh trùng di động tiến tới và dưới 4% tinh trùng có hình thái bình thường.

+ Azoospermia (không có tinh trùng): không có tinh trùng trong tinh dịch.

+ Cryptozoospermia: có vài tinh trùng trong mẫu tinh dịch.

- Đứt gãy DNA tinh trùng theo phương pháp phân tán chất nhuộm sắc được chẩn đoán khi DFI > 15%; trong đó nam giới có DFI từ 15% đến 30% có mức độ phân mảnh DNA tinh trùng nhẹ, và nam giới có DFI > 30% có mức độ phân mảnh DNA nặng [61].

- Stress oxy hoá bằng phương pháp đo cân bằng thế oxy hoá khử: ORP > 1,34 mV/1 triệu tinh trùng/mL được xác định có tình trạng stress oxy hoá trong mẫu tinh dịch [19].

- Sự cải thiện độ đứt gãy DNA tinh trùng được xác định khi có sự giảm giá trị DFI trên 15% xuống dưới 15% sau điều trị.

2.4. XỬ LÝ SỐ LIỆU

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS version 26 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 26.0), phần mềm GraphPad.

Các phương pháp thống kê:

- Kiểm tra phân phối chuẩn bằng phép kiểm Kolmogorow-Smirnov.
- Biểu định lượng được biểu diễn bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn nếu thuộc phân phối chuẩn hay trung vị (giá trị lớn nhất – giá trị nhỏ nhất) nếu không thuộc phân phối chuẩn.
- Kiểm định mối tương quan r giữa hai biến định lượng bằng sử dụng phép kiểm Pearson test.
- So sánh sự khác biệt giữa 2 số trung bình bằng phép kiểm t không ghép cặp (nếu các số trung bình thuộc phân phối chuẩn), phép kiểm Mann-Whitney U test (nếu số trung bình không thuộc phân phối chuẩn)
- Kiểm định sự khác biệt các giá trị trung bình trước và sau điều trị với dữ liệu phân bố chuẩn hoặc xấp xỉ chuẩn bằng phép kiểm định t ghép cặp, nếu dữ liệu không phân bố chuẩn sử dụng kiểm định Wilcoxon để thay thế mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.
- Biểu định tính được hiển thị bằng tần số (tỷ lệ %)
- + So sánh sự khác biệt giữa 2 tỷ lệ dùng phép kiểm χ^2 2 đuôi; fisher's exact test đối với những bảng 2x2 có 20% ô có tần số kỳ vọng < 5.
- + Kiểm định sự khác biệt các tỷ lệ trước và sau điều trị sử dụng kiểm định McNemar test với mức ý nghĩa $\alpha = 0,05$.

- Đánh giá một test chẩn đoán:

Phân tích đường cong ROC qua thông số diện tích dưới đường cong ROC (AUC) để đánh giá giá trị ORP nhằm phân biệt các trường hợp có kết quả tình dịch đồ bất thường, hoặc có đứt gãy DNA tình trùng. Mỗi điểm trên đường cong ROC là tọa độ tương ứng với tần suất dương tính thật (độ nhạy) trên trục tung và tần suất dương tính giả (1- độ đặc hiệu) trên trục hoành.

Kết quả phân tích đường cong ROC cho biết điểm cắt của ORP mà tại giá trị đó có độ nhạy và độ đặc hiệu của test cao nhất.

Diện tích dưới đường cong được xác định để đánh giá độ tin cậy của một phương pháp chẩn đoán. Diện tích dưới đường cong ROC càng lớn thì giá trị của test chẩn đoán càng tốt.

Bảng 2.4. Ý nghĩa của diện tích dưới đường biểu diễn ROC

AUC	Ý nghĩa
> 0,9	Rất tốt
0,8 - 0,9	Tốt
0,7 - 0,8	Trung bình
0,6 - 0,7	Không tốt
0,5 - 0,6	Không thể áp dụng

Cách không chế sai số và yếu tố nhiễu: Tất cả các bệnh nhân được khám, phỏng vấn, đánh giá lâm sàng bởi nghiên cứu viên. Các giá trị siêu âm ghi nhận là giá trị trung bình của ba lần đo trên cùng bệnh nhân tại cùng một thời điểm.

Ngoài ra, quá trình điều trị của tất cả bệnh nhân trong nghiên cứu đều được theo dõi sát bởi nghiên cứu viên bằng cách gọi điện thoại hỏi trực tiếp về việc sử dụng thuốc hàng tháng. Những trường hợp bệnh nhân tham gia điều trị đều được tư vấn dùng thuốc vào một thời điểm cố định trong ngày tránh việc bỏ sót. Trong quá trình thu thập dữ liệu, những trường hợp bỏ trị hoặc không sử dụng thuốc đầy đủ đều được loại khỏi nghiên cứu nhằm đảm bảo tính đồng bộ trong điều trị đối với tất cả bệnh nhân.

2.5. ĐẠO ĐỨC NGHIÊN CỨU

- Nghiên cứu được chấp thuận của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế số H2021/390.
- Nghiên cứu đã được đăng ký thử nghiệm lâm sàng với mã số NCT04509583.
- Bệnh nhân được chọn đúng chỉ định, được giải thích kỹ và đồng ý tham gia nghiên cứu.
- Mọi thông tin cá nhân bệnh nhân được giữ bí mật.
- Các xét nghiệm chẩn đoán, điều trị đều đem lại lợi ích, không làm phương hại đến bệnh nhân.
- Bệnh nhân không phải trả thêm chi phí với những xét nghiệm thực hiện.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Qua nghiên cứu này, từ tháng 12/2020 đến tháng 12/2023, chúng tôi đã thu thập dữ liệu trên 351 bệnh nhân nam thoả mãn điều kiện chọn bệnh, và được điều trị tại Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y-Dược Huế.

3.1. ĐẶC ĐIỂM CỦA MẪU NGHIÊN CỨU

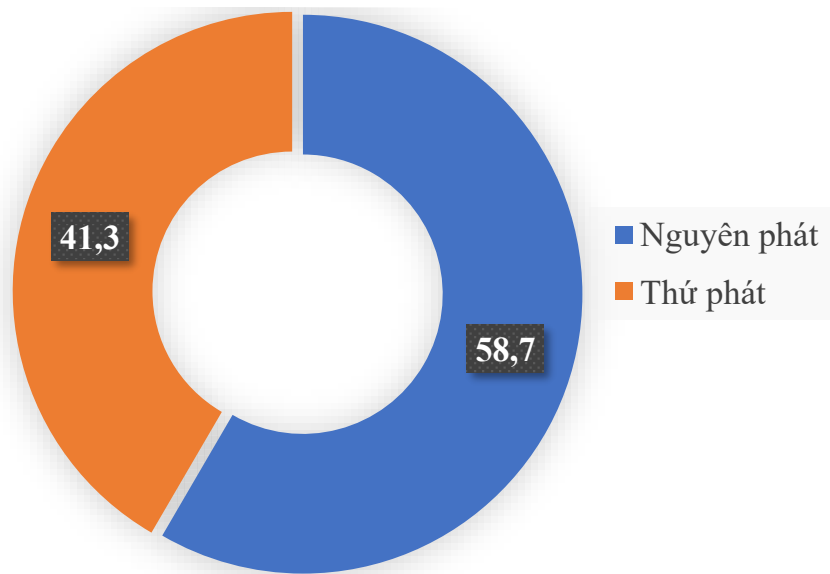
3.1.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

3.1.1.1. Đặc điểm nhân khẩu học

Bảng 3.1. Đặc điểm nhân khẩu học (n=351)

Đặc điểm		Số lượng	Tỷ lệ (%)
Tuổi (năm) $34,72 \pm 5,57$ (22-56)	<30	63	18,0
	30-39	230	65,5
	40-49	52	14,8
	≥ 50	6	1,7
Nghề nghiệp	Lao động trí óc	143	40,7
	Lao động chân tay	154	43,9
	Khác	54	15,4
Nơi ở	Thành thị	179	51,0
	Nông thôn	172	49,0

Nhóm nghiên cứu có độ tuổi trung bình là $34,72 \pm 5,57$ tuổi. Nhóm độ tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là từ 30-39 tuổi (65,5%); nhóm có độ tuổi chiếm tỷ lệ thấp nhất là trên 50 tuổi (1,7%). Các trường hợp có nghề nghiệp lao động chân tay chiếm tỷ lệ 43,9%. Vị trí địa lý có sự tương đương nhau giữa thành thị và nông thôn (51,0% so với 49,0%).



Biểu đồ 3.1. Phân loại vô sinh

Nhóm vô sinh nguyên phát chiếm tỷ lệ 58,7%; trong khi đó vô sinh thứ phát chiếm tỷ lệ thấp hơn với 41,3%.

3.1.1.2. Tiền sử bệnh lý

Bảng 3.2. Tiền sử bệnh lý và một số yếu tố lối sống (n=351)

Tiền sử	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Quai bị	67	19,1
Viêm tinh hoàn	6	1,7
Giãn tĩnh mạch tinh	20	5,7
Thoát vị bẹn	2	0,6
Viêm đường sinh dục	0	0,0
Phẫu thuật thoát vị bẹn	1	0,3
Phẫu thuật giãn tĩnh mạch tinh	3	0,9
Phẫu thuật khác	48	13,7
Hút thuốc	132	37,6
6,43 ± 6,40 (0,05-34,0)*		
Uống rượu/bia	270	76,9

*Số lượng gói x năm: Trung bình ± ĐLC (ít nhất – nhiều nhất)

Bệnh nhân có tiền sử mắc quai bị là 19,4%; các trường hợp còn lại như viêm tinh hoàn hay giãn tĩnh mạch tinh chiếm tỷ lệ thấp hơn với 1,7% và 5,7%. Bệnh nhân có tiền sử hút thuốc chiếm tỷ lệ 37,6%, với số lượng thuốc hút trung bình là $6,43 \pm 6,40$ gói x năm. Tỷ lệ có uống rượu/bia chiếm 76,9%.

3.1.1.3. Đặc điểm nhân trắc học và nội tiết sinh dục

Bảng 3.3. Đặc điểm nhân trắc học (n=351)

Đặc điểm	TB $\pm$ DLC	TV	Thấp nhất	Cao nhất
Chiều cao (m)	1,68 $\pm$ 0,05	1,68	1,53	1,83
Cân nặng (kg)	65,89 $\pm$ 8,83	65,00	50	90
Vòng bụng (cm)	85,34 $\pm$ 8,33	86,00	62	110
Vòng mông (cm)	96,43 $\pm$ 5,82	96,00	73	115
Chỉ số bụng/mông	0,88 $\pm$ 0,06	0,89	0,65	1,13
HATT (mmHg)	118,75 $\pm$ 11,67	120,00	90	170
HATTr (mmHg)	75,88 $\pm$ 9,87	80,00	60	120
BMI (kg/m ²)	23,34 $\pm$ 2,71	23,39	16,85	32,69

Bệnh nhân có chiều cao trung bình là 1,68 $\pm$ 0,05 m; cân nặng trung bình là 65,89 $\pm$ 8,83 kg. Các chỉ số vòng bụng và vòng mông trung bình lần lượt là 85,34 cm và 96,43 cm. Huyết áp tâm thu và tâm trương trong giới hạn bình thường với giá trị trung bình là 118,75 $\pm$ 11,67 mmHg và 75,88 $\pm$ 9,87 mmHg. Chỉ số BMI của nhóm nghiên cứu là 23,34 $\pm$ 2,71 kg/m² xếp vào nhóm thừa cân.

Bảng 3.4. Đặc điểm nội tiết (n=351)

Đặc điểm	TB $\pm$ DLC	Thấp nhất	Cao nhất
FSH (mIU/mL)	5,30 $\pm$ 2,74	1,02	22,51
LH (mIU/mL)	5,79 $\pm$ 2,91	1,60	31,76
Testosterone (ng/mL)	4,78 $\pm$ 2,75	1,01	40,94
Prolactin (mIU/mL)	294,32 $\pm$ 203,77	78,76	2784,00

Chỉ số FSH trung bình là 5,30 $\pm$ 2,74 mIU/mL; giá trị LH trung bình đạt 5,79 $\pm$ 2,91 mIU/mL; nồng độ testosterone máu là 4,78 $\pm$ 2,75 ng/mL.

Bảng 3.5. Đặc điểm về hội chứng chuyển hoá ở nhóm nghiên cứu (n=351)

Chỉ số	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Vòng bụng ≥ 90 cm	112	31,9
Triglycerides $\geq 1,7$ mmol/L	200	57,0
HDL-C $< 1,03$ mmol/L	68	19,4
Huyết áp tâm thu $\geq 130/85$ mmHg	87	24,8
Đường máu đói $\geq 5,6$ mmol/L	120	34,2
Hội chứng chuyển hóa ($\geq 3/5$)	94	26,8

Về các đặc điểm nhằm đánh giá hội chứng chuyển hoá, 31,9% trường hợp có vòng bụng trên 90 cm; 57,0% trường hợp có nồng độ triglycerides trên 1,7 mmol/L. Tỷ lệ nam giới trong nghiên cứu được chẩn đoán mắc hội chứng chuyển hoá là 26,8%.

3.1.2. Đặc điểm cơ quan sinh dục

3.1.2.1. Đặc điểm tinh hoàn: vị trí, mật độ, thể tích (thước Prader)

Bảng 3.6. Đặc điểm cơ quan sinh dục (n=351)

Đặc điểm		Số lượng	Tỷ lệ (%)
Mật độ tinh hoàn	Bình thường	341	97,2
	Bất thường	10	2,8
Thể tích tinh hoàn trái (mL)	TB $\pm$ DLC	10,38 $\pm$ 3,41 (4-30)	
Thể tích tinh hoàn phải (mL)	TB $\pm$ DLC	10,57 $\pm$ 3,48 (0-30)	
Mật độ mào tinh hoàn	Bình thường	340	96,9
	Bất thường	11	3,1
Thể tích mào tinh hoàn	Bình thường	338	96,3
	Bất thường	13	3,7
Hẹp bao quy đầu		5	1,4
Tinh hoàn ẩn		2	0,6
Sờ thấy u cục		8	2,3
Hẹp niệu đạo		1	0,3

Giãn tĩnh mạch tĩnh		81	25,9
Phân độ giãn tĩnh mạch tĩnh	Độ 1	66	18,8
	Độ 2	16	4,5
	Độ 3	9	2,6

Kết quả thăm khám lâm sàng đánh giá cơ quan sinh dục ngoài bao gồm: Thể tích tinh hoàn trái và tinh hoàn phải có giá trị tương đương nhau với $10,38 \pm 3,41$ mL và $10,57 \pm 3,48$ mL. Mật độ mào tinh hoàn bình thường chiếm 96,9%; thể tích mào tinh hoàn bình thường chiếm 96,3%. Tỷ lệ bệnh nhân phát hiện thấy giãn tĩnh mạch tĩnh là lớn nhất với 25,9%, trong đó chủ yếu thuộc mức độ nhẹ (độ 1) với 18,8%.

3.1.2.2. Đặc điểm siêu âm bìu

Bảng 3.7. Đặc điểm về siêu âm bìu (n=351)

Đặc điểm	TB $\pm$ DLC	Thấp nhất	Cao nhất
Thể tích tinh hoàn trái (ml)	$12,86 \pm 3,00$	4,90	30,58
Thể tích tinh hoàn phải (ml)	$13,39 \pm 3,31$	1,07	27,41
RI trái	$0,55 \pm 0,24$	0,30	4,80
RI phải	$0,57 \pm 0,33$	0,34	6,60
PSV trái (cm/s)	$6,26 \pm 2,82$	1,80	27,00
PSV phải (cm/s)	$6,36 \pm 3,06$	1,90	28,20
EDV trái (cm/s)	$2,88 \pm 1,29$	1,00	9,60
EDV phải (cm/s)	$2,88 \pm 1,40$	1,00	13,50

Trên hình ảnh siêu âm, thể tích trung bình tinh hoàn trái và phải lần lượt là $12,86 \pm 3,00$ ml và $13,39 \pm 3,31$ ml. Giữa hai tinh hoàn trái và phải, chỉ số tốc độ đỉnh tâm thu và tốc độ cuối tâm trương cũng tương đương nhau.

3.1.3. Xác định mức độ cương dương theo thang điểm IIEF-15

Bảng 3.8. Phân bố tình trạng rối loạn chức năng tình dục tổng thể theo thang điểm IIEF-15 (n=351)

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Không	257	73,2
Nhẹ	88	25,1
Trung bình	4	1,1
Nặng	2	0,6
Tổng	351	100,0

Thang điểm IIEF đánh giá mức độ cương dương vật xác định 73,2% các trường hợp không có rối loạn cương; 25,1% bệnh nhân có rối loạn cương ở mức độ nhẹ; 1,1% và 0,6% nam giới có tình trạng rối loạn cương ở mức độ trung bình và mức độ nặng.

Bảng 3.9. Tỷ lệ và điểm của thang đo IIEF (n=351)

Đặc điểm	n(%)	TB ± DLC	Thấp nhất	Cao nhất
Rối loạn cương dương	123 (35,0%)	25,06 ± 4,29	5	30
Thoả mãn về giao hợp	170 (48,4%)	12,26 ± 2,42	1	20
Khả năng đạt sự cực khoái	91 (25,9%)	8,97 ± 1,66	2	16
Sự ham muốn tình dục	193 (55%)	8,14 ± 1,69	2	10
Sự thoả mãn toàn diện đời sống tình dục	191 (54,4%)	8,10 ± 1,78	2	10
Thang đo chung	95 (27,1%)	62,44 ± 9,62	16	75

Khi xét trên từng nhóm riêng biệt của thang điểm IIEF: Chỉ số rối loạn cương dương nhận thấy có 35,0 % trường hợp có rối loạn, chỉ số đánh giá thoả mãn về giao hợp có 48,4% trường hợp mắc rối loạn, 25,9% trường hợp có rối loạn khả năng đạt cực khoái, chỉ số đánh giá ham muốn về tình dục có 55,0% gặp rối loạn, chỉ số đánh giá thoả mãn toàn diện đời sống tình dục có 54,4% trường hợp rối loạn.

3.2. KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA STRESS OXY HOÁ LÊN CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG DỰA VÀO KẾT QUẢ TINH DỊCH ĐỒ, ĐÚT GẤY DNA TINH TRÙNG Ở CÁC TRƯỜNG HỢP VÔ SINH.

3.2.1. Đặc điểm stress oxy hoá trong tinh dịch và chất lượng tinh trùng

Bảng 3.10. Kết quả đánh giá stress oxy hóa theo ORP (n=351)

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
ORP > 1,34 mV/triệu tinh trùng/mL	213	60,7
ORP ≤ 1,34 mV/triệu tinh trùng/mL	138	39,3
Trung vị (min – max)	1,08 (0,09-25,82)	

Trong nhóm nghiên cứu, có 213 trường hợp (60,7%) có kết quả ORP cao hơn 1,34 mV/triệu tinh trùng/mL; 138 trường hợp (39,3%) có kết quả ORP thấp hơn ngưỡng trên. Giá trị trung vị là 1,08 mV/triệu tinh trùng/mL.

Bảng 3.11. Kết quả tinh dịch đồ (n=351)

Đặc điểm	% bình thường	TB ± ĐLC	Thấp nhất	Cao nhất
Thể tích tinh dịch (mL)	325 (92,6%)	2,89 ± 1,16	0,20	6,70
Độ nhớt	312 (88,9%)	N/A		
Tỷ lệ tinh trùng di động (%)	46 (13,1%)	17,83 ± 9,89	0,00	50,00
Tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường (%)	52 (14,8%)	2,13 ± 1,25	0,00	6,00
Tỷ lệ tinh trùng bất thường đầu	N/A	96,49 ± 2,14	87,00	100
Tỷ lệ bất thường cổ - đuôi	N/A	48,34 ± 6,87	28,00	73,00
Mật độ tinh trùng (triệu tinh trùng/mL)	278 (79,2%)	30,27 ± 19,16	1,00	146,00
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	346 (98,6%)	83,21 ± 7,06	36,00	94,00
Số lượng bạch cầu (triệu/mL)	280 (79,8%)	N/A		

Tỷ lệ các trường hợp có tinh trùng di động bình thường tốt là 13,1%, với tỷ lệ di động trung bình là $17,83 \pm 9,89$ %. Tỷ lệ trung bình tinh trùng hình thái bình thường là $2,13 \pm 1,25$ %; mật độ tinh trùng trung bình là $30,27 \pm 19,18$ triệu tinh trùng/mL. Tỷ lệ trung bình tinh trùng còn sống là $83,21 \pm 7,06$ %.

Bảng 3.12. Kết quả xét nghiệm đánh giá đứt gãy DNA tinh trùng bằng Halosperm (n=351)

Đặc điểm	TB $\pm$ DLC	TV	Thấp nhất	Cao nhất
Tinh trùng quầng halo lớn	$110,20 \pm 85,26$	83,0	0	435
Tinh trùng quầng halo trung bình	$288,37 \pm 74,67$	303,0	21	421
Tinh trùng quầng halo nhỏ	$58,21 \pm 32,38$	51,0	10	243
Tinh trùng không có quầng halo	$23,08 \pm 21,66$	17,0	2	162
Tinh trùng thoái triển	$21,46 \pm 32,84$	16,00	0	566
DFI (%)	$20,24 \pm 10,46$	17,40	3,0	68,8

Kết quả DFI trung bình có giá trị là $20,24 \pm 10,46$ % ở ngưỡng đứt gãy mức độ trung bình. Bệnh nhân có độ đứt gãy cao nhất là 68,8% và thấp nhất là 2,22%.

Bảng 3.13. Các nhóm bệnh nhân theo mức độ đứt gãy DNA tinh trùng bằng Halosperm (n=351)

Giá trị		n	%
DFI (%)	<15	128	36,47
	15 - 30	169	48,15
	>30	54	15,38
Tổng		351	100

48,15% các trường hợp có tình trạng đứt gãy DNA tinh trùng mức độ trung bình; 15,38% nam giới có đứt gãy DNA tinh trùng mức độ nặng; 36,47% bệnh nhân không có đứt gãy DNA tinh trùng.

3.2.2. Liên quan giữa một số đặc điểm chung với stress oxy hóa

3.2.2.1. Đặc điểm nhân khẩu học

Bảng 3.14. Liên quan giữa một số đặc điểm chung và yếu tố lối sống với ORP (n=351)

Đặc điểm		ORP				p
		≤1,34		>1,34		
		n	%	n	%	
Loại vô sinh	Nguyên phát	126	61,2	80	38,8	0,826
	Thứ phát	87	60,0	58	40,0	
BMI (kg/m ²)	<18,5	8	88,9	1	12,5	0,357
	18,5-<23	92	60,1	61	39,9	
	23-<25	59	58,4	42	41,6	
	≥25	53	60,9	34	39,1	
Hút thuốc	Không	132	60,3	87	39,7	0,840
	Có	81	61,4	51	38,6	
Rượu bia	Không	51	63,0	30	37,0	0,632
	Có	162	60,0	108	40,0	

Chưa phát hiện được các yếu tố liên quan với stress oxy hóa dựa trên nhân khẩu học.

3.2.2.2. Liên quan giữa tiền sử bệnh lý với stress oxy hóa

Bảng 3.15. Liên quan giữa tiền sử bệnh lý với ORP (n=351)

Đặc điểm		ORP				p
		≤1,34		>1,34		
		n	%	n	%	
Viêm tinh hoàn	Không	210	60,9	135	39,1	0,683
	Có	3	50,0	3	50,0	
Quai bị	Không	174	61,3	110	38,7	0,654
	Có	39	58,2	28	41,8	
Giãn TM tinh	Không	203	61,3	128	38,7	0,314
	Có	10	50,0	10	50,0	

Nam giới có tiền sử viêm tinh hoàn có tỷ lệ ORP cao hơn so với nhóm không có tiền sử viêm tinh hoàn (50% so với 39,1%); tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,683$), tương tự với tiền sử mắc bệnh quai bị, và tiền sử giãn tĩnh mạch tinh.

3.2.3. Liên quan giữa một số đặc điểm lâm sàng với tình trạng stress oxy hóa

3.2.3.1. Liên quan giữa đặc điểm nhân trắc học bệnh lý với stress oxy hóa

Bảng 3.16. Liên quan giữa đặc điểm nhân trắc học bệnh lý với ORP ($n=351$)

Đặc điểm	ORP	n	TB $\pm$ ĐLC	TB khác biệt	p
Chiều cao (m)	>1,34	138	1,68 $\pm$ 0,05	-0,002	0,729
	$\leq$ 1,34	213	1,68 $\pm$ 0,05		
Cân nặng (kg)	>1,34	138	66,11 $\pm$ 8,56	0,353	0,715
	$\leq$ 1,34	213	65,76 $\pm$ 9,01		
BMI (kg/m^2)	>1,34	138	23,45 $\pm$ 2,55	0,173	0,560
	$\leq$ 1,34	213	23,27 $\pm$ 2,82		
Vòng bụng (cm)	>1,34	138	85,24 $\pm$ 8,14	-0,16	0,861
	$\leq$ 1,34	213	85,40 $\pm$ 8,46		
Vòng mông (cm)	>1,34	138	96,55 $\pm$ 5,70	0,194	0,761
	$\leq$ 1,34	213	96,36 $\pm$ 5,90		
Huyết áp tâm thu (mmHg)	>1,34	138	118,66 $\pm$ 9,07	-0,143	0,911
	$\leq$ 1,34	213	118,80 $\pm$ 13,11		
Huyết áp tâm trương (mmHg)	>1,34	138	75,80 $\pm$ 8,59	-0,142	0,896
	$\leq$ 1,34	213	75,94 $\pm$ 10,63		

Các đặc điểm nhân trắc học không tìm thấy mối liên quan với tình trạng stress oxy hoá thể hiện ở chỉ số ORP. Bệnh nhân có ORP cao có BMI trung bình là 23,45 $\pm$ 2,55 và tương tự với BMI ở nhóm ORP thấp là 23,27 $\pm$ 2,82. Vòng bụng và vòng mông ở hai nhóm ORR cao và thấp có giá trị tương đương nhau với $p=0,861$ và $p=0,761$.

3.2.3.2. Liên quan giữa mật độ tinh hoàn, mào tinh với stress oxy hóa

Bảng 3.17. Liên quan giữa mật độ tinh hoàn, mào tinh với stress oxy hóa (n=351)

Mật độ		ORP				p
		≤1,34		>1,34		
		n	%	n	%	
Tinh hoàn	Bình thường	211	61,9	130	38,1	0,016
	Bất thường	2	20,0	8	80,0	
Mào tinh hoàn	Bình thường	209	61,5	131	38,5	0,119
	Bất thường	5	36,4	7	63,6	

Bệnh nhân có kết quả thăm khám mật độ tinh hoàn bất thường có tỷ lệ xuất hiện ORP cao hơn (80,0% so với 38,1% ở nhóm mật độ tinh hoàn bình thường, $p = 0,016$). Sự khác biệt này tương tự quan sát thấy ở đặc điểm mật độ mào tinh hoàn, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p = 0,119$).

3.2.3.3. Liên quan giữa các bệnh lý phát hiện được với stress oxy hóa

Bảng 3.18. Liên quan giữa các bất thường sinh dục với stress oxy hóa (n=351)

Đặc điểm		ORP				p
		≤1,34		>1,34		
		n	%	n	%	
Giãn TM tinh	Không	167	64,2	93	35,8	0,021
	Có	46	50,5	45	49,5	
Hẹp bao quy đầu	Không	210	60,7	136	39,3	1,00
	Có	3	60,0	2	40,0	
Rối loạn cương	Không	163	63,4	94	36,6	0,082
	Có	50	53,2	44	46,8	

Bệnh nhân giãn tĩnh mạch tinh có tỷ lệ ORP cao là 49,5%, cao hơn so với nhóm không mắc giãn tĩnh mạch tinh (35,8%), $p=0,021$. Các rối loạn khác như rối loạn cương và hẹp bao quy đầu không quan sát thấy sự khác biệt về tỷ lệ ORP cao giữa hai nhóm với $p = 0,082$ và $p = 1,00$.

Bảng 3.19. Hệ số tương quan giữa các vấn đề chỉ số IIEF với ORP (n=351)

	r	p
Rối loạn cương dương	-0,053	0,324
Thoả mãn về giao hợp	-0,047	0,384
Khả năng đạt cực khoái	-0,101	0,058
Sự ham muốn về tình dục	-0,126	0,254
Sự thoả mãn toàn diện tình dục	-0,107	0,045

Các đặc điểm về chức năng tình dục có mối tương quan nghịch với mức độ ORP trong tình dục. Tuy vậy, sự tương quan có ý nghĩa về thống kê chỉ quan sát được ở đặc điểm sự thoả mãn toàn diện về chức năng tình dục ($p = 0,045$).

Bảng 3.20. Liên quan giữa Hội chứng chuyển hóa và stress oxy hóa (n=351)

Đặc điểm		ORP				p
		≤1,34		>1,34		
		n	%	n	%	
Vòng bụng (cm)	<90	146	61,1	93	38,9	0,821
	≥90	67	59,8	45	40,2	
Huyết áp	Bình thường	158	59,8	106	40,2	0,577
	Bất thường	55	63,2	32	36,8	
Đường huyết (mmol/L)	<5.6	136	58,9	95	41,1	0,336
	≥5.6	77	64,2	43	35,8	
HDL-C (mmol/L)	≥1.03	171	60,4	112	39,6	0,839
	<1.03	42	61,8	26	38,2	
Triglycerid (mmol/L)	<1.7	94	62,3	57	37,7	0,601
	≥1.7	119	59,5	81	40,5	
HCCH	Không	154	59,9	103	40,1	0,629
	Có	59	62,8	35	37,2	

Các đặc điểm về hội chứng chuyển hoá không có mối liên quan với tỷ lệ ORP cao. Nhóm bệnh nhân có hội chứng chuyển hoá có tỷ lệ ORP cao là 37,2% tương tự với nhóm không mắc hội chứng chuyển hoá (40,1%).

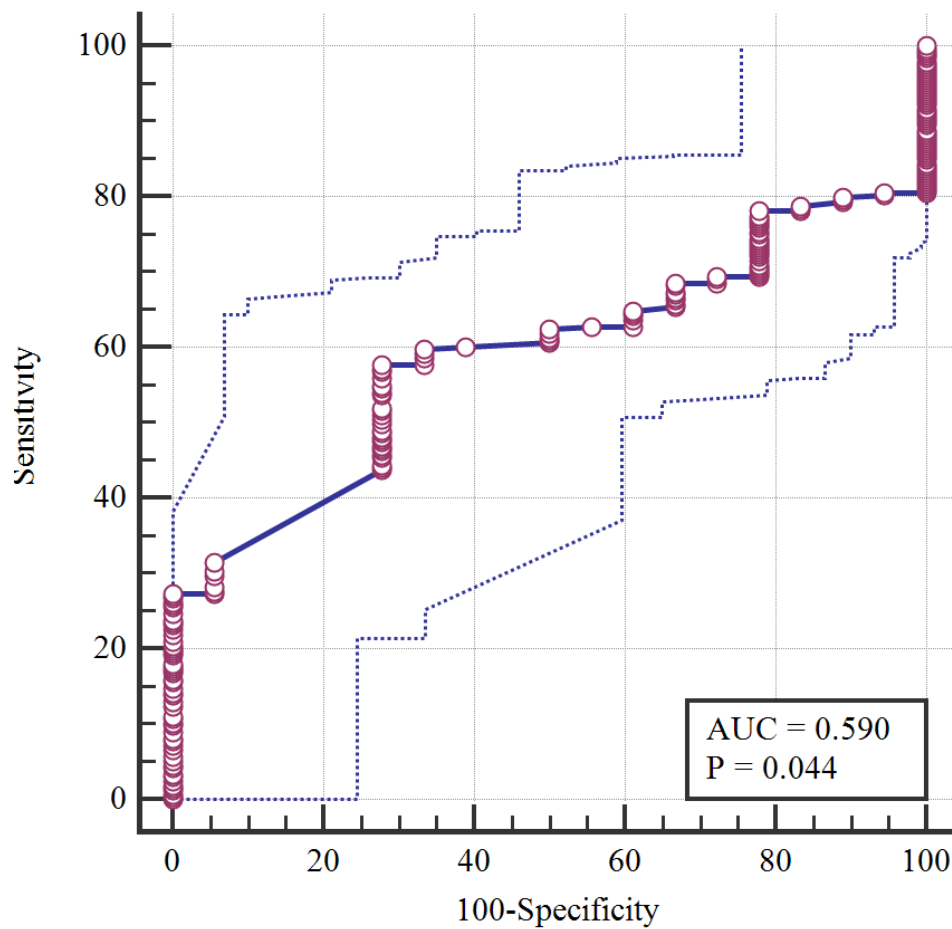
3.2.4. Liên quan giữa đặc điểm cận lâm sàng với tình trạng stress oxy hóa

3.2.4.1. Liên quan giữa kết quả tình dịch đồ với tình trạng stress oxy hóa

Bảng 3.21. Liên quan giữa kết quả tình dịch đồ và stress oxy hóa (n=351)

Đặc điểm		ORP				p
		≤1,34		>1,34		
		n	%	n	%	
Thể tích	Bình thường	194	59,7	131	40,3	0,179
	Bất thường	19	73,1	7	26,9	
pH	Bình thường	200	59,5	136	40,5	0,035
	Bất thường	13	86,7	2	13,3	
Tỷ lệ TT sống sót	Bình thường	210	60,7	136	39,3	0,975
	Bất thường	3	60,0	2	40,0	
Độ di động	Bình thường	27	58,7	19	41,3	0,767
	Bất thường	186	61,0	119	39,0	
Mật độ	Bình thường	199	71,6	79	28,4	<0,001
	Bất thường	14	19,2	59	80,8	
Tỷ lệ TT hình thái bình thường	Bình thường	33	63,5	19	36,5	0,657
	Bất thường	180	60,2	119	39,8	
Bất thường đầu (%)		96,3		96,8		0,029
Bất thường cổ - đuôi (%)		47,12		50,24		<0,001
KQ tinh dịch đồ	Bình thường	9	50,0	9	50,0	0,341
	Bất thường	204	61,3	129	38,7	

Tình dịch có thể tích bình thường có tỷ lệ ORP cao là 40,3% lớn hơn so với nhóm thể tích bất thường, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa ($p = 0,179$). Mật độ tinh trùng thấp có tỷ lệ stress oxy hoá cao hơn hẳn so với nhóm có mật độ tinh trùng bình thường (80,8% so với 28,4%, $p < 0,001$). Nhóm có stress oxy hoá có tỷ lệ bất thường đầu cao hơn với 96,8% so với 96,3 ($p = 0,032$), tỷ lệ bất thường cổ - đuôi cao hơn với 50,24% so với 47,12% ($p < 0,001$).

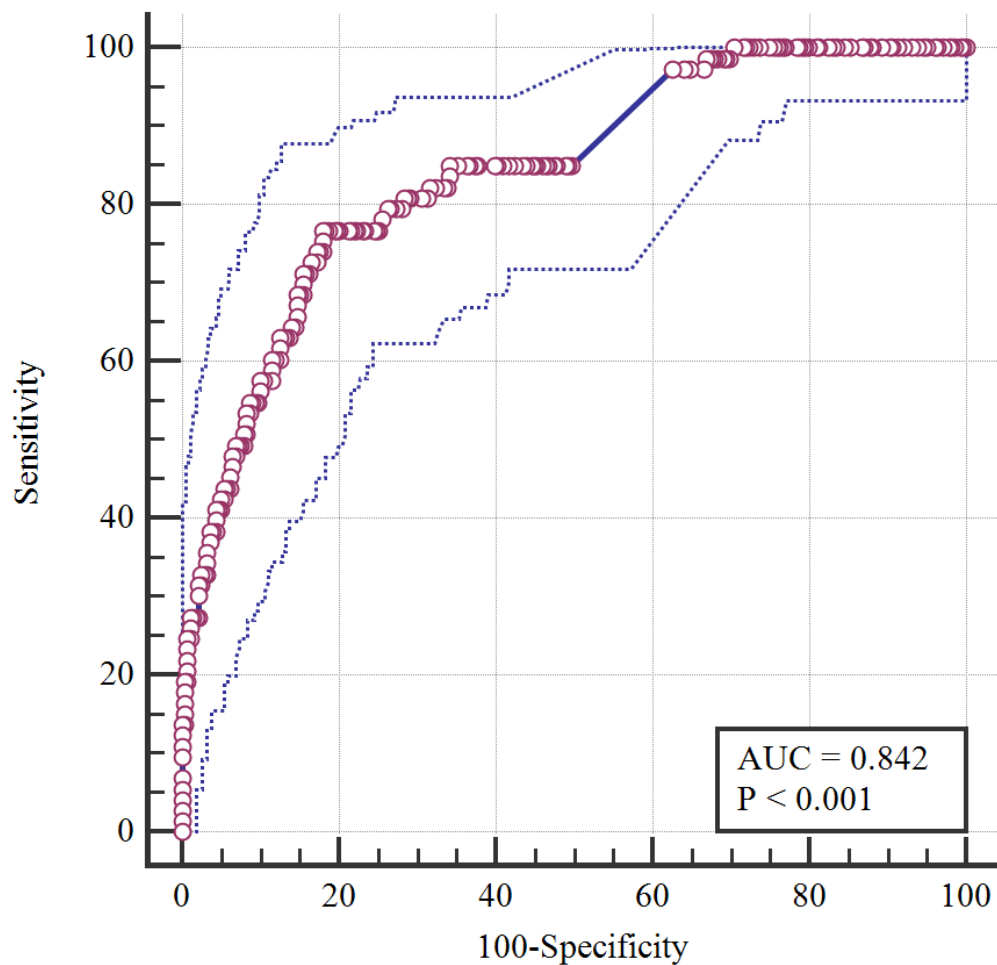


Biểu đồ 3.2. Giá trị ORP trong phân biệt kết quả tình dịch đồ bình thường

Bảng 3.22. Giá trị dưới đường cong ROC của ORP trong dự báo kết quả tình dịch đồ bất thường

Yếu tố	AUC (95% CI)	Điểm cắt	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	p
ORP (mV/triệu tinh trùng/mL)	0,59 (0,54 - 0,64)	1,22	57,70	72,22	0,044

Đường cong ROC đã xác định ngưỡng cắt của giá trị ORP nhằm phân biệt các trường hợp có bất thường về kết quả tình dịch đồ là 1,22 mV/triệu tinh trùng/mL với AUC: 0,59 (0,54 - 0,64), $p = 0,044$; độ nhạy là 57,70% và độ đặc hiệu là 72,22%.



Biểu đồ 3.3. Giá trị ORP trong phân biệt kết quả mật độ tinh trùng bất thường

Bảng 3.23. Giá trị dưới đường cong ROC của ORP trong dự báo kết quả mật độ tinh trùng bất thường

Yếu tố	AUC (95% CI)	Điểm cắt	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	p
ORP (mV/triệu tinh trùng/mL)	0,84 (0,80 - 0,88)	1,62	82,20	66,20	<0,001

Đường cong ROC đã xác định ngưỡng cắt của giá trị ORP nhằm phân biệt các trường hợp có bất thường về kết quả mật độ tinh trùng là 1,62 mV/triệu tinh trùng/mL với AUC: 0,84 (0,80 - 0,88), $p < 0,001$; độ nhạy là 82,20% và độ đặc hiệu là 66,20%.

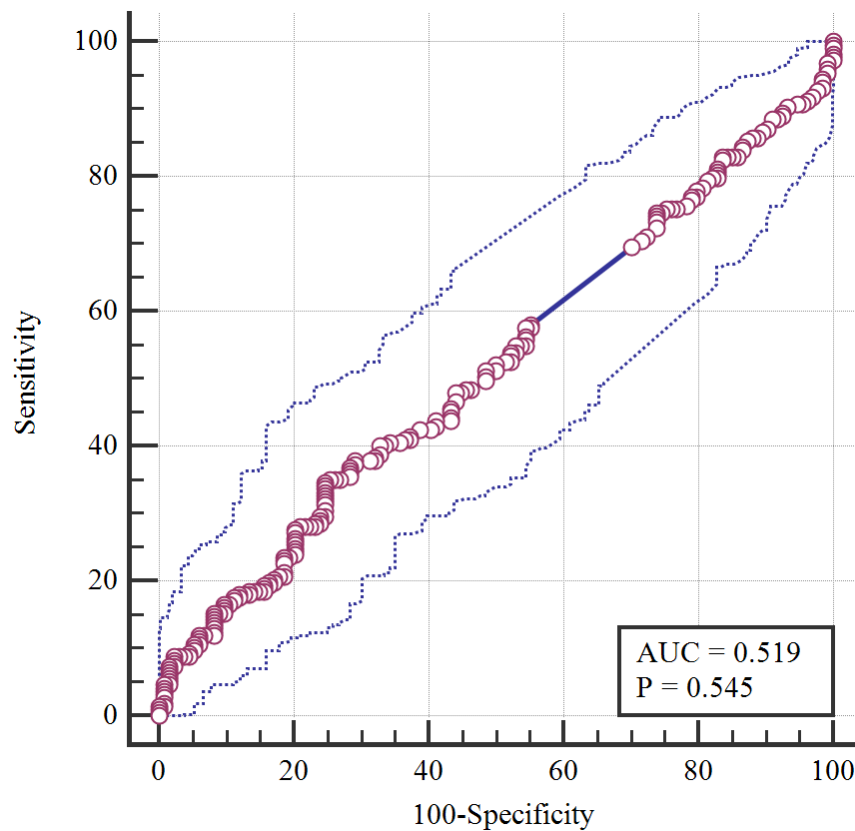
3.2.4.2. Liên quan giữa kết quả xét nghiệm Halosperm với tình trạng stress oxy hóa

Bảng 3.24. Liên quan giữa kết quả Halosperm và ORP (n=351)

Halosperm	ORP $\leq$ 1,34			ORP $>$ 1,34			p*
	TV	Nhỏ nhất	Lớn nhất	TV	Nhỏ nhất	Lớn nhất	
Tình trạng quầng halo lớn	78,00	7	391	99,00	0	435	0,066
Tình trạng quầng halo trung bình	318,00	74	418	287,50	21	421	<0,001
Tình trạng quầng halo nhỏ	49,00	13	167	53,00	10	243	0,225
Tình trạng không có quầng halo	17,00	3	138	18,00	2	162	0,517
Tình trạng thoái triển	16,00	2	103	16,50	0	83	0,676
DFI (%)	17,20	6,20	63,20	17,80	3,00	68,80	0,188

*p: wilcoxon test

Tổng số tình trạng có quầng halo trung bình ở nhóm không stress oxy hoá cao hơn có ý nghĩa so với nhóm có stress oxy hoá (318,00 so với 287,50; $p < 0,001$). Các chỉ số khác không có sự khác biệt về tổng số tình trạng quan sát được giữa hai nhóm có và không có stress oxy hoá. Chỉ số đứt gãy DNA ở nhóm không stress oxy hoá là tương đương với nhóm có stress oxy hoá ($p = 0,188$).



Biểu đồ 3.4. Giá trị ORP chẩn đoán đứt gãy DNA tình trùng

Bảng 3.25. Giá trị dưới đường cong ROC của ORP trong dự báo kết quả tăng đứt gãy DNA tình trùng

Yếu tố	AUC (95% CI)	Điểm cắt	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	p
ORP (mV/triệu tinh trùng/mL)	0,55 (0,46 - 0,60)	1,56	34,60	75,40	0,545

Đường cong ROC đã xác định ngưỡng cắt của giá trị ORP nhằm phân biệt các trường hợp có bất thường về đứt gãy DNA tình trùng trên 15% (DFI>15%) là 1,56 mV/triệu tinh trùng/mL với AUC: 0,55 (0,46 - 0,60), p = 0,545; Độ nhạy là 34,60% và độ đặc hiệu là 75,40%.

Bảng 3.26. Mối liên quan định lượng giữa chỉ số ORP và các yếu tố liên quan (n=351)

Đặc điểm	r	p Pearson test
Độ tuổi (năm)	-0,099	0,063
Chiều cao (m)	0,001	0,984
Cân nặng (kg)	0,061	0,257
Vòng bụng (cm)	0,015	0,785
Vòng hông (cm)	0,032	0,556
Thể tích tinh hoàn trái (mL) (thước đo Prader)	-0,182	0,001
Thể tích tinh hoàn phải (mL) (thước đo Prader)	-0,139	0,009
pH tinh dịch	0,348	0,001
Thể tích tinh dịch (mL)	0,005	0,920
Mật độ tinh trùng (triệu tinh trùng/mL)	-0,572	<0,001
Độ di động (a) (%)	-0,031	0,566
Độ di động (b) (%)	-0,136	0,011
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	0,070	0,192
Tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường (%)	-0,207	<0,001
Tỷ lệ bất thường đầu (%)	0,180	0,001
Tỷ lệ bất thường cổ đuôi (%)	0,238	<0,001
Tinh trùng quầng halo lớn	0,142	0,008
Tinh trùng quầng halo trung bình	-0,206	<0,001
Tinh trùng quầng halo nhỏ	0,045	0,405
Tinh trùng không có quầng halo	0,031	0,564
Tinh trùng thoái triển	-0,006	0,905
DFI (%)	0,030	0,579

Giá trị ORP có mối tương quan thuận tỷ lệ tinh trùng bất thường đầu ($r = 0,180$; $p = 0,001$); tỷ lệ tinh trùng bất thường cổ đuôi ($r = 0,238$; $p < 0,001$). Chỉ số ORP có mối tương quan nghịch với thể tích tinh hoàn trái ($r = -0,182$; $p = 0,001$); thể tích tinh hoàn phải ($r = -0,139$; $p = 0,009$); mật độ tinh trùng ($r = -0,572$; $p < 0,001$); tinh trùng di động tiến tới chậm ($r = -0,136$; $p < 0,001$); tinh trùng hình thái bình thường ($r = -0,207$; $p < 0,001$); tinh trùng có quầng halo trung bình ($r = -0,206$; $p < 0,001$).

3.3. ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ CỦA LIỆU PHÁP CHỐNG OXY HOÁ LÊN MỘT SỐ CHỈ SỐ CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG

Trong nghiên cứu này, 84 bệnh nhân đã được điều trị bằng phác đồ chất chống oxy hoá và được thu thập dữ liệu một cách đầy đủ để tiến hành phân tích hiệu quả của phác đồ chất chống oxy hoá lên chất lượng của tinh trùng và chức năng sinh sản. Chúng tôi đã chia các nhóm nhỏ dựa trên đặc điểm về chất lượng tinh trùng để đánh giá hiệu quả can thiệp bao gồm: nhóm có kết quả tinh dịch đồ bất thường ($N_1 = 81$), nhóm có chỉ số ORP tăng cao ($N_2 = 46$), nhóm có kết quả đứt gãy DNA cao ($N_3 = 66$).

Bảng 3.27. Đặc điểm chung của nhóm nam giới tham gia điều trị ($n=84$)

Đặc điểm	TB $\pm$ DLC	Thấp nhất	Cao nhất
Tuổi (năm)	33,12 $\pm$ 4,79	22	51
Chiều cao (m)	1,68 $\pm$ 0,05	1,55	1,83
Cân nặng (kg)	64,79 $\pm$ 7,60	50	82
Vòng bụng (cm)	84,27 $\pm$ 7,41	66	103
Vòng hông (cm)	95,98 $\pm$ 4,92	84	108
HATT (mmHg)	117,26 $\pm$ 9,46	100	140
HATTr (mmHg)	73,21 $\pm$ 8,94	60	100
BMI (kg/m ²)	22,93 $\pm$ 2,36	17,72	27,51

Đặc điểm chung của nhóm nam giới tham gia vào mục tiêu 2 có các chỉ số trong giới hạn bình thường, và khá tương đồng với các đặc điểm chung của quần thể nghiên cứu chung.

Bảng 3.28. Tỷ lệ cải thiện các chỉ số đánh giá chất lượng tinh trùng trước và sau điều trị (n=84)

Chỉ số	Chỉ số bình thường n (%)			p Mc Nemar test
	Trước can thiệp	Sau can thiệp	% thay đổi	
Thể tích	71 (85,7%)	75 (89,3%)	3,6 (-4,3 – 11,4)	0,369
pH	81 (96,4%)	83 (98,8%)	2,4 (-2,4 – 7,1)	0,320
Tỷ lệ tinh trùng sống	82 (97,6%)	82 (97,6%)	0,0 (-3,4 – 3,4)	1,00
Tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới	7 (8,3%)	11 (13,1%)	4,8 (-3,4 – 12,9)	0,251
Mật độ tinh trùng	58 (69%)	65 (77,4%)	8,3 (-0,1- 16,7)	0,052
Tỷ lệ TT hình thái bình thường	10 (11,9%)	12 (14,3%)	2,4 (-7,1 – 11,9)	0,62
ORP (≤ 1.34)	38 (45,2%)	52 (61,9%)	16,7 (5,1 – 28,3)	0,005
DFI ($<15\%$)	18 (21,4%)	40 (47,6%)	26,2 (14,0 – 38,4)	$<0,001$

Tỷ lệ thay đổi từ bất thường sang bình thường được nhận thấy rõ rệt nhất ở chỉ số ORP sau điều trị với tỷ lệ thay đổi là 16,7% ($p=0,005$), và chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng với tỷ lệ thay đổi là 26,2% ($p<0,001$).

3.3.1. Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hóa trên nhóm có kết quả tinh dịch đồ bất thường (n=81)

3.3.1.1. Kết quả của liệu pháp chống oxy hóa trên rối loạn cương

Bảng 3.29. Điểm rối loạn cương theo thang điểm IIEF trước và sau điều trị (n=81)

Điểm IIEF	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB±SEM)	p Wilcoxon Test
Chung	63,15±9,30	66,36±7,77	-3,21±0,35	<0,001
Khả năng cương dương	25,14±4,44	26,40±3,76	-1,26±0,19	<0,001
Thoả mãn về giao hợp	12,28±2,59	13,11±2,21	-0,83±0,13	<0,001
Khả năng đạt cực khoái	9,17±1,34	9,23±1,25	-0,06±0,08	0,456
Sự ham muốn về tình dục	8,30±1,62	8,30±1,39	-0,53±0,11	<0,001
Sự thoả mãn toàn diện về tình dục	8,26±1,78	8,79±1,38	-0,53±0,10	<0,001

Ở nhóm có kết quả tinh dịch đồ bất thường, bệnh nhân sau điều trị có sự cải thiện về chức năng tình dục thể hiện ở thang điểm IIEF-15: chỉ số IIEF sau điều trị là $66,36 \pm 7,77$, lớn hơn so với $63,15 \pm 9,30$ ở trước điều trị ($p < 0,001$). Các đặc điểm riêng lẻ trong thang điểm cũng có sự cải thiện rõ rệt sau điều trị.

3.3.1.2. Kết quả tinh dịch đồ

Bảng 3.30. Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị (n=81)

Tinh dịch đồ	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB±SEM)	p <i>Wilcoxon Test</i>
Thể tích (ml)	2,78±1,21	2,74±1,07	0,04 ± 0,14	0,805
pH	7,80±0,34	7,80 ± 0,27	0,0±0,04	0,521
Mật độ (Triệu tinh trùng/mL)	26,26 ± 18,15	27,02±15,88	-0,77 ± 1,69	0,241
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	83,10±7,94	82,43±9,96	0,67±0,94	0,559
Tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường (%)	1,72±1,14	2,05±1,28	-0,33±0,14	0,028
Tỷ lệ TT di động (%)	14,93±8,85	17,15±8,74	-2,22±0,97	0,012

Kết quả tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường có sự cải thiện rõ rệt sau điều trị ($2,05 \pm 1,28\%$ sau điều trị so với $1,72 \pm 1,14 \%$ trước điều trị, $p = 0,028$). Tương tự, tỷ lệ tinh trùng di động tăng từ $14,93\%$ lên $17,15\%$ sau điều trị với $p = 0,012$.

3.3.1.3. Kết quả Halosperm và ORP

Bảng 3.31. Kết quả xét nghiệm Halosperm trước và sau điều trị (n=81)

Tình dịch đồ	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB $\pm$ SEM)	p <i>Wilcoxon Test</i>
Tình trùng quang halo lớn	83,52 $\pm$ 74,14	118,07 $\pm$ 81,23	-34,56 $\pm$ 11,98	0,002
Tình trùng quang halo trung bình	281,79 $\pm$ 68,52	288,48 $\pm$ 70,93	-6,69 $\pm$ 10,15	0,439
Tình trùng quang halo nhỏ	74,15 $\pm$ 42,74	52,52 $\pm$ 27,20	21,63 $\pm$ 4,79	<0,001
Tình trùng Không có halo	35,43 $\pm$ 29,99	20,67 $\pm$ 17,77	14,77 $\pm$ 3,25	<0,001
Tình trùng thoái triển	25,09 $\pm$ 19,04	20,26 $\pm$ 17,21	4,83 $\pm$ 1,86	0,014
DFI (%)	26,93$\pm$13,58	18,69$\pm$10,54	8,24$\pm$1,47	<0,001
ORP (mv/triệu tinh trùng/mL)	2,64$\pm$3,43	1,47$\pm$1,56	1,17$\pm$0,29	<0,001

Ở nhóm có kết quả tình dịch đồ bất thường, kết quả phân mảnh DNA tình trùng có sự cải thiện đáng kể sau khi điều trị. Chỉ số DFI trung bình giảm rõ rệt sau khi điều trị (26,93% so với 18,69%, $p < 0,001$). ORP có sự sụt giảm sau điều trị (2,64 $\pm$ 3,43 mV/triệu tinh trùng/mL so với 1,47 $\pm$ 1,56 mV/triệu tinh trùng/mL; $p < 0,001$).

Bảng 3.32. Kết quả xét nghiệm ROS trước và sau điều trị (n=81)

			Trước can thiệp	Sau can thiệp	p
Stress oxy hoá	Có	N	46	32	0,009
		%	56,79	39,51	
	Không	N	35	49	
		%	43,21	60,49	
	Tổng		81	81	
% khác biệt (KTC 95%)			17,3(5,5 - 29,0)		

Trong các trường hợp điều trị, có sự sụt giảm đáng kể về kết quả cân bằng thể oxy hoá - khử: trước điều trị có tỷ lệ stress oxy hoá tinh dịch là 56,79% và sau điều trị chỉ còn 39,51%. Sự thay đổi này có ý nghĩa về thống kê ($p=0,009$).

3.3.2. Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hóa trên nhóm có stress oxy hoá tinh dịch (n=46)

3.3.2.1. Kết quả của liệu pháp chống oxy hóa trên rối loạn cương

Bảng 3.33. Điểm rối loạn cương theo thang điểm IIEF trước và sau điều trị (n=46)

Điểm IIEF	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB±SEM)	P Wilcoxon Test
Khả năng cương dương	25,15±5,05	26,43±4,21	-1,28±0,28	<0,01
Thoả mãn về giao hợp	12,15±3,01	13,09±2,48	-0,93±0,2	<0,01
Khả năng đạt cực khoái	9,13±1,51	9,17±1,39	-0,04±0,12	0,747
Sự ham muốn về tình dục	8,33±1,52	8,78±1,43	-0,46±0,15	<0,01
Sự thoả mãn toàn diện về tình dục	8,07±1,65	8,67±1,27	-0,61±0,15	<0,01
Điểm IIEF	62,83 ±10,67	66,15±8,93	-3,33 ±0,51	<0,01

Ở nhóm có stress oxy hoá trong tinh dịch, bệnh nhân sau điều trị có sự cải thiện về chức năng tình dục thể hiện ở thang điểm IIEF-15 và các đặc điểm: Khả năng cương dương, sự thoả mãn về giao hợp, sự ham muốn về tình dục, sự thoả mãn toàn diện về tình dục.

3.3.2.2. Kết quả tinh dịch đồ

Bảng 3.34. Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị (n=46)

Tinh dịch đồ	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB$\pm$SEM)	p <i>Wilcoxon Test</i>
Thể tích (ml)	2,55 $\pm$ 0,99	2,76 $\pm$ 1,09	-0,21 $\pm$ 0,15	0,224
pH	7,83 $\pm$ 0,37	7,82 $\pm$ 0,28	0,00 $\pm$ 0,05	0,438
Mật độ (triệu tinh trùng/mL)	19,48$\pm$14,00	23,63$\pm$15,76	-4,15$\pm$1,76	0,009
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	83,07 $\pm$ 7,81	81,07 $\pm$ 12,54	2,0 $\pm$ 1,29	0,114
Tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường (%)	1,57 $\pm$ 1,17	1,96 $\pm$ 1,37	-0,39 $\pm$ 0,21	0,068
Tỷ lệ tinh trùng di động (%)	14,43 $\pm$ 9,56	16,52 $\pm$ 8,66	-2,09 $\pm$ 1,32	0,067

Kết quả mật độ tinh trùng trước và sau điều trị có sự cải thiện rõ rệt: trước điều trị là 19,48 $\pm$ 14,00, và sau điều trị là 23,63 $\pm$ 15,76 triệu tinh trùng/mL; p=0,009; kết quả tỷ lệ tinh trùng sống trước và sau điều trị lần lượt là 83,07 $\pm$ 7,81, và 81,07 $\pm$ 12,54%.

3.3.2.3 Kết quả Halosperm và ORP

Bảng 3.35. Kết quả xét nghiệm Halosperm trước và sau điều trị (n=46)

Tình dịch đồ	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB±SEM)	p <i>Wilcoxon Test</i>
Tình trùng quầng halo lớn	77,39±66,08	129,02±82,48	-51,63±14,31	0,001
Tình trùng quầng halo trung bình	282,24±66,32	282,04±71,61	0,2±12,76	0,782
Tình trùng quầng halo nhỏ	83,00±48,33	49,91±23,26	33,09±6,68	<0,001
Tình trùng Không có halo	33,59±25,72	19,22±17,22	14,37±3,41	<0,001
Tình trùng thoái triển	23,78±14,03	19,80±16,56	3,98±2,41	0,008
DFI (%)	28,07±13,39	17,79± 8,97	10,29±1,91	<0,001
ORP (mV/triệu tinh trùng/mL)	4,03±4,03	1,87±1,90	2,16±0,45	<0,001

Chỉ số DFI trung bình giảm rõ rệt sau khi điều trị (28,07% so với 17,79%, p=0,008). ORP có sự sụt giảm sau điều trị (4,03 ± 4,03 mV/triệu tinh trùng/mL so với 1,87 ± 1,90 mV/triệu tinh trùng/mL; p<0,001).

3.3.3. Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hóa trên nhóm có đứt gãy DNA tinh trùng nặng (n=66)

3.3.3.1 Kết quả của liệu pháp chống oxy hóa trên rối loạn cương

Bảng 3.36. Điểm rối loạn cương theo thang điểm IIEF trước và sau điều trị (n=66)

Điểm IIEF	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB±SEM)	p Wilcoxon Test
Khả năng cương dương	24,89±4,49	26,17±3,89	-1,27±0,21	p<0,001
Thoả mãn về giao hợp	12,27±2,65	13,08±2,24	-0,8±0,15	p<0,001
Khả năng đạt cực khoái	9,27±1,34	9,33±1,23	-0,06±0,08	0,537
Sự ham muốn về tình dục	8,27±1,69	8,83±1,45	-0,56±0,11	p<0,001
Sự thoả mãn toàn diện về tình dục	8,23±1,82	8,77±1,4	-0,55±0,11	p<0,001
Điểm IIEF	63,14±9,48	66,38±7,95	-3,24±0,39	p<0,001

Ở nhóm có đứt gãy DNA tinh trùng, bệnh nhân sau điều trị có sự cải thiện về chức năng tình dục thể hiện ở thang điểm IIEF-15. Thang điểm IIEF chung tăng từ $63,14 \pm 9,48$ lên $66,38 \pm 7,95$, $p<0,001$.

3.3.3.2. Kết quả tinh dịch đồ

Bảng 3.37. Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị (n=66)

Tinh dịch đồ	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB±SEM)	p <i>Wilcoxon Test</i>
Thể tích (ml)	2,68±1,10	2,73±1,08	-0,05±0,13	0,973
pH	7,81±0,39	7,85±0,25	-0,04±0,05	0,900
Mật độ (triệu tinh trùng/mL)	29,20±23,82	30,26±19,04	-1,06±2,0	0,182
Tỷ lệ tinh trùng sống (%)	82,52±8,33	81,82±10,73	0,70±1,07	0,686
Tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường (%)	1,88±1,42	2,12±1,40	-0,24±0,16	0,158
Tỷ lệ tinh trùng di động (%)	16,44±9,82	18,23±8,56	-1,79±1,05	0,050

Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị không có sự cải thiện rõ rệt ở nhóm có kết quả đứt gãy DNA cao. Mật độ tinh trùng trước điều trị là $29,20 \pm 23,82$, và sau điều trị là $30,26 \pm 19,04$ triệu tinh trùng/mL; $p=0,182$. Kết quả tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường có sự cải thiện sau điều trị ($2,12 \pm 1,40\%$ sau điều trị so với $1,88 \pm 1,42\%$ trước điều trị), tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p=0,158$.

3.3.3.3 Kết quả Halosperm và ORP

Bảng 3.38. Kết quả xét nghiệm Halosperm và ORP trước và sau điều trị (n=66)

Tình dịch đồ	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB±SEM)	p Wilcoxon Test
Tình trùng quầng halo lớn	56,82±43,43	118,64±90,52	-61,82±11,75	p<0,01
Tình trùng quầng halo trung bình	286,24±62,38	283,98±79,55	2,26±10,27	0,845
Tình trùng quầng halo nhỏ	85,89±41,32	53,27±28,22	32,62±5,35	p<0,01
Tình trùng Không có halo	42,76±29,93	22,23±19,21	20,53±3,66	p<0,001
Tình trùng thoái triển	28,29±19,86	21,88±18,33	6,41±2,15	p<0,01
DFI (%)	31,39± 12,15	19,48±11,08	11,91±1,55	0,004
ORP (mv/triệu tinh trùng/mL)	2,82±3,73	1,48±1,67	1,34±0,35	p<0,01

Chỉ số DFI trung bình giảm rõ rệt sau khi điều trị (31,39% so với 19,48%, p=0,004). ORP có sự sụt giảm sau điều trị (2,82 ± 3,73 mV/triệu tinh trùng/mL so với 1,48 ± 1,67 mV/triệu tinh trùng/mL; p<0,01).

Bảng 3.39. Kết quả xét nghiệm ROS trước và sau điều trị (n=66)

			Trước can thiệp	Sau can thiệp	p
Stress oxy hoá	Có	N	39	26	0,011
		%	59,09	39,39	
	Không	N	27	40	
		%	40,91	60,61	
	Tổng		66	66	
% khác biệt (KTC 95%)			19,7 (6,3 - 33,1)		

Trong các trường hợp điều trị, có sự sụt giảm đáng kể về kết quả cân bằng thể oxy hoá - khử: trước điều trị có tỷ lệ stress oxy hoá tinh dịch là 59,09% và sau điều trị chỉ còn 39,39%. Sự thay đổi này có ý nghĩa về thống kê ($p=0,011$).

3.3.4. Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hóa trên nhóm bệnh nhân phối hợp bất thường tinh dịch đồ, đứt gãy DNA, và tăng stress oxy hoá trong tinh dịch (n=39)

3.3.4.1. Kết quả của liệu pháp chống oxy hóa trên rối loạn cương

Bảng 3.40. Điểm rối loạn cương theo thang điểm IIEF trước và sau điều trị (n=39)

Điểm IIEF	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB $\pm$ SEM)	p <i>Wilcoxon Test</i>
Chung	62,34$\pm$11,01	66,03$\pm$9,16	-3,67$\pm$0,58	<0,001
Khả năng cương dương	24,82 $\pm$ 5,16	26,26 $\pm$ 4,30	-1,44 $\pm$ 0,31	<0,001
Thoả mãn về giao hợp	12,18 $\pm$ 3,01	13,13 $\pm$ 2,44	-0,95 $\pm$ 0,22	<0,001
Khả năng đạt cực khoái	9,15 $\pm$ 1,53	9,21 $\pm$ 1,40	-0,05 $\pm$ 0,13	0,762
Sự ham muốn về tình dục	8,26 $\pm$ 1,55	8,82 $\pm$ 1,50	-0,56 $\pm$ 0,16	0,001
Sự thoả mãn toàn diện về tình dục	7,95 $\pm$ 1,70	8,62 $\pm$ 1,23	-0,67 $\pm$ 0,17	<0,001

Bệnh nhân sau điều trị có sự cải thiện về chức năng tình dục thể hiện ở thang điểm IIEF-15: chỉ số IIEF sau điều trị là 66,03 $\pm$ 9,16, lớn hơn so với 62,34 $\pm$ 11,01

ở trước điều trị ($p < 0,001$). Các đặc điểm riêng lẻ trong thang điểm cũng có sự cải thiện rõ rệt sau điều trị.

3.3.4.2. Kết quả tinh dịch đồ

Bảng 3.41. Kết quả tinh dịch đồ trước và sau điều trị (n=39)

Tinh dịch đồ	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB$\pm$SEM)	P <i>Wilcoxon Test</i>
Thể tích (ml)	2,68 $\pm$ 1,0	2,74 $\pm$ 1,11	-0,06 $\pm$ 0,16	0,818
pH	7,83 $\pm$ 0,37	7,85 $\pm$ 0,27	-0,02 $\pm$ 0,05	0,768
Mật độ (triệu tinh trùng/mL)	20,72 $\pm$ 14,69	25,23$\pm$16,06	-4,51 $\pm$ 2,01	0,011
Tỷ lệ sống (%)	82,97 $\pm$ 7,98	80,56 $\pm$ 13,47	2,41 $\pm$ 1,47	0,137
Hình thái bình thường (%)	1,56 $\pm$ 1,23	1,97 $\pm$ 1,29	-0,41 $\pm$ 0,20	0,054
Tỷ lệ tinh trùng di động (%)	15,49 $\pm$ 9,57	17,18 $\pm$ 8,14	-1,69 $\pm$ 1,43	0,142

Kết quả mật độ tinh trùng trước và sau điều trị có sự cải thiện rõ rệt (trước điều trị là 20,72 $\pm$ 14,69 triệu tinh trùng/mL; sau điều trị là 25,23 $\pm$ 16,06 triệu tinh trùng/mL; $p=0,011$). Các chỉ số khác chưa nhận thấy sự cải thiện rõ rệt ($p>0,05$).

3.3.4.3 Kết quả Halosperm và ORP

Bảng 3.42. Sự thay đổi kết quả xét nghiệm Halosperm trước và sau điều trị (n=39)

Chỉ số	Trước can thiệp	Sau can thiệp	Khác biệt (TB±SEM)	P Wilcoxon Test
Tình trạng quầng halo lớn	59,49 ±39,94	123,31±84,78	-63,82±13,97	<0,001
Tình trạng quầng halo trung bình	285,64±62,64	282,97±74,49	2,67±12,92	0,738
Tình trạng quầng halo nhỏ	91,72±47,23	51,59±24,67	40,13±7,31	<0,001
Tình trạng Không có halo	37,74±25,74	20,87±18,08	16,87±3,88	<0,001
Tình trạng thoái triển	25,41 ±14,10	21,25±17,36	4,15±2,78	0,100
DFI (%)	30,97±12,41	18,74±9,40	12,23±2,09	<0,001
ORP (mV/triệu tinh trùng/mL)	4,24±4,32	1,87±2,02	2,37±0,52	<0,001

Chỉ số DFI trung bình giảm rõ rệt sau khi điều trị (30,97% so với 18,74%, $p<0,001$). Sự cân bằng thể hoá oxy hoá - khử tương ứng có sự sụt giảm sau điều trị (4,24 mV/triệu tinh trùng/mL so với 1,87 mV/triệu tinh trùng/mL; $p<0,001$).

3.3.5. Yếu tố liên quan đến kết quả điều trị

Bảng 3.43. Các đặc điểm chung và kết quả điều trị (n=84)

Đặc điểm		Sự cải thiện DFI				p
		Có		Không		
		n	%	n	%	
Nhóm tuổi	<35	21	37,5	35	62,5	0,137
	≥35	6	21,4	22	78,6	
Hút thuốc	Không	14	27,5	37	72,5	0,252
	Có	13	39,4	20	60,6	
Loại vô sinh	Nguyên phát	16	29,6	38	70,4	0,508
	Thứ phát	11	36,7	19	63,3	
BMI	<18.5	0	0,0	2	100,0	0,357
	18.5-<23	16	40,0	24	60,0	
	23-<25	8	32,0	17	68,0	
	≥25	3	17,6	14	82,4	
Giãn TM tinh	Không	21	33,3	42	66,7	0,686
	Có	6	28,6	15	71,4	
Hội chứng chuyển hóa	Có	6	33,3	12	66,7	0,903
	Không	21	31,8	45	68,2	

Bệnh nhân có hút thuốc lá có tỷ lệ cải thiện DFI là 39,4%; trong khi nhóm không hút thuốc có tỷ lệ cải thiện DFI là 27,5%; $p = 0,252$. Tương tự, không có sự khác biệt rõ rệt về tỷ lệ bệnh nhân có giảm DFI sau điều trị giữa các nhóm mắc các bệnh lý khác nhau.

Bảng 3.44. Đặc điểm chung và kết quả điều trị (n=84)

Đặc điểm	DFI cải thiện	TB ± DLC	TB khác biệt	p
Chiều cao (m)	Có	1,69 ± 0,06	0,007	0,228
	Không	1,68 ± 0,05		
Cân nặng (kg)	Có	64,37 ± 6,53	-0,61	0,852
	Không	65,0 ± 8,11		
BMI	Có	22,65 ± 1,96	-0,41	0,462 ^a
	Không	23,06 ± 2,53		
Vòng bụng	Có	83,11 ± 7,45	-1,71	0,325 ^a
	Không	84,82 ± 7,38		
Vòng hông	Có	95,70 ± 4,83	-0,40	0,712
	Không	96,11 ± 5,00		
Huyết áp tâm thu	Có	119,26 ± 9,17	2,94	0,202
	Không	116,32 ± 9,52		
Huyết áp tâm trương	Có	76,30 ± 9,67	4,54	0,053
	Không	71,75 ± 8,26		

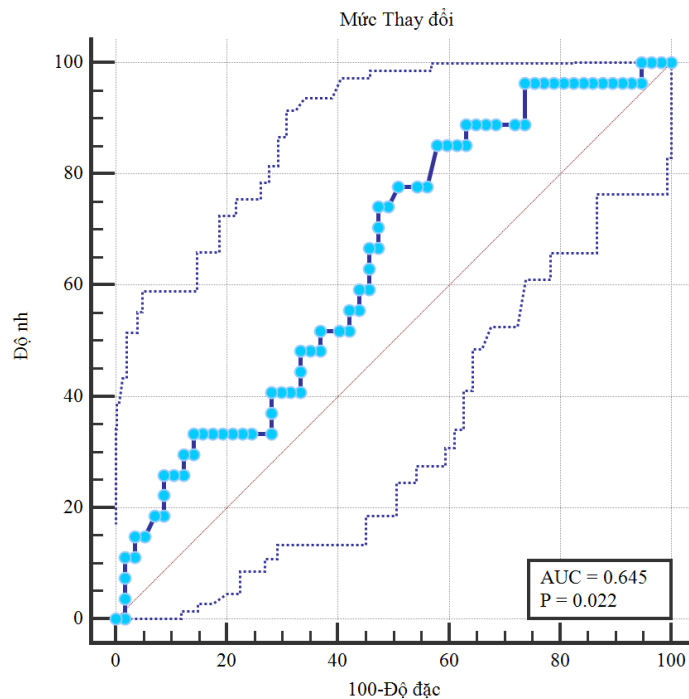
a: t-test

Khi đánh giá các biến định lượng như cân nặng, chiều cao, BMI, vòng bụng, vòng hông, huyết áp, không có sự khác biệt có ý nghĩa về thống kê giữa hai nhóm có cải thiện DFI sau điều trị và không cải thiện DFI ($p > 0,05$).

Bảng 3.45. Liên quan giữa kết quả tinh dịch đồ lên kết quả điều trị (n=84)

Hiệu số thay đổi	DFI cải thiện	TB $\pm$ ĐLC	TB khác biệt	p
Thể tích	Có	-0,09 $\pm$ 1,13	-0,16	0,810
	Không	0,07 $\pm$ 1,32		
PH	Có	0,04 $\pm$ 0,22	0,08	0,622
	Không	-0,4 $\pm$ 0,41		
Tỷ lệ di động (a+b)	Có	-4,70 $\pm$ 7,92	-4,04	0,025
	Không	-0,67 $\pm$ 8,86		
Mật độ	Có	-4,70 $\pm$ 16,92	-6,69	0,032
	Không	1,98 $\pm$ 14,75		
Tỷ lệ sống	Có	0,93 $\pm$ 5,72	0,52	0,901
	Không	0,40 $\pm$ 9,29		
Hình thái bình thường	Có	-0,56 $\pm$ 1,28	-0,43	0,096
	Không	-0,12 $\pm$ 1,38		

Ở nhóm có cải thiện DFI sau điều trị, sự thay đổi trung bình tỷ lệ tinh trùng di động là 4,70 % so với nhóm không cải thiện DFI là 0,67%; p = 0,025. Mật độ tinh trùng ở nhóm có cải thiện DFI sau điều trị có sự thay đổi trung bình tăng lên 4,7 triệu tinh trùng/mL so với giảm đi 1,98 triệu tinh trùng/mL ở nhóm không có sự cải thiện DFI.



Biểu đồ 3.5. Ngưỡng ORP để phân loại nhóm bệnh nhân có đáp ứng với phác đồ chống oxy hoá trong cải thiện độ đứt gãy DNA tinh trùng

Bảng 3.46. Giá trị dưới đường cong ROC của ORP trong dự báo khả năng đáp ứng với phác đồ chống oxy hoá nhằm cải thiện đứt gãy DNA tinh trùng

Yếu tố	AUC (95% CI)	Điểm cắt	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	p
ORP (mV/triệu tinh trùng/mL)	0,64 (0,52 - 0,74)	0,22	85,19	42,11	0,022

Điểm cắt ORP với giá trị 0,22 mV/triệu tinh trùng/mL có thể tiên lượng được một phần khả năng đáp ứng của bệnh nhân với phác đồ chống oxy hoá trong việc cải thiện độ bền vững DNA tinh trùng (AUC:0,64, p=0,022).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. BÀN LUẬN THIẾT KẾ NGHIÊN CỨU VÀ KỸ THUẬT ĐÁNH GIÁ STRESS OXY HOÁ - KHỦ TRONG TINH DỊCH

4.1.1. Bàn luận về thiết kế nghiên cứu

Chúng tôi đã sử dụng tỷ lệ mắc tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch nhằm tính tỷ lệ cỡ mẫu cho mục tiêu thứ 1. Tuy nhiên, đối với mục tiêu 2 nhằm đánh giá hiệu quả của phác đồ điều trị chất chống oxy hoá, chúng tôi sử dụng dữ liệu từ một nghiên cứu khác tương tự đã áp dụng nhóm thuốc chống oxy hoá với phác đồ khá giống với nghiên cứu của chúng tôi để đánh giá hiệu quả điều trị vô sinh với kết cục lâm sàng là sự cải thiện về các chỉ số tinh dịch đồ, và kết quả đứt gãy DNA tinh trùng.

Ở mục tiêu 1, chúng tôi tập trung đánh giá tình trạng stress oxy hoá trên nhóm đối tượng nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh, bởi vì đây là nhóm sẽ được thăm khám và đánh giá chức năng sinh sản một cách toàn diện nhất, từ đó chúng tôi sẽ có được kết quả về sự ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng và chất lượng hoạt động tinh dịch. Mặc dù việc đánh giá sự ảnh hưởng của stress oxy hoá lên nhóm nam giới không phải từ cặp vợ chồng vô sinh - hiếm muộn là rất quan trọng và sẽ cung cấp được các dữ liệu đối chứng, nhưng chúng tôi không lựa chọn các trường hợp này vào nghiên cứu, bởi vì việc tiến hành đánh giá stress oxy hoá và thực hiện các thăm dò về chức năng sinh sản chuyên sâu rộng rãi trên nhóm đối tượng này là không khả thi vì sự tiêu tốn về kinh tế, và không phù hợp với ý đức nghiên cứu.

Ở mục tiêu 2, khi thực hiện đánh giá hiệu quả điều trị bằng nhóm chất chống oxy hoá lên chức năng sinh sản ở nam giới vô sinh, chúng tôi lựa chọn phác đồ phối hợp bằng các chất chống oxy hoá thay vì sử dụng đơn chất chống oxy hoá. Theo các dữ liệu đã có liên quan đến phác đồ chống oxy hoá ở nam giới, các phác đồ đa vi chất thường được sử dụng vì các hiệu quả rõ rệt giúp cải thiện chất lượng tinh trùng [57], [148]. Tuy vậy, khi áp dụng trên nhóm nghiên cứu, chúng tôi cần phải tư vấn chi tiết cho bệnh nhân trước khi chỉ định sử dụng thuốc chống oxy hoá bởi vì các bất lợi về

kéo dài thời gian điều trị, và kinh phí cần chi trả để có thể sử dụng thuốc liên tục trong 3 tháng. Giá trung bình một liệu trình điều trị trong vòng 3 tháng bằng phác đồ chống oxy hoá trong nghiên cứu của chúng tôi là hơn 9 triệu đồng. Do đó, một số bệnh nhân sẽ khó có thể tiếp cận và vì thế, một số đông các bệnh nhân sau khi được đánh giá ở mục tiêu 1 đã không đồng ý tiếp tục tham gia vào mục tiêu 2 của nghiên cứu.

Luận án tập trung đánh giá hiệu quả của các chất chống oxy hóa lên chức năng sinh sản ở nam giới. Trong đó, nghiên cứu sử dụng sự phối hợp của nhiều gốc chống oxy hóa khác nhau với các cơ chế khác nhau đã được nêu trong phần tổng quan. Profortil là một chế phẩm bao gồm nhiều loại chất chống oxy hóa và đã có một số nghiên cứu trên thế giới sử dụng nhằm đánh giá khả năng giúp cải thiện chức năng sinh sản [32], [140]. Vì vậy, về mặt bản chất của nghiên cứu là sử dụng một nhóm các chất chống oxy hóa khác nhau để đánh giá hiệu quả cải thiện chất lượng tinh trùng.

Trong nghiên cứu này, việc chỉ định điều trị thuốc chống oxy hoá được thực hiện trên nhiều nhóm bệnh nhân với các đặc điểm khác nhau như: nhóm có kết quả tinh dịch đồ bất thường, nhóm có kết quả đứt gãy DNA tinh trùng cao hơn mức bình thường, nhóm có kết quả đo stress oxy hoá - khử cao. Chúng tôi mong muốn đánh giá liệu phác đồ chống oxy hoá - khử bằng thuốc có thể có hiệu quả lớn nhất với những nhóm bệnh nhân nào.

Kết thúc điều trị, chúng tôi phân tích sự thay đổi về chức năng tinh dịch, chất lượng tinh trùng thông qua các phương pháp thăm dò như tinh dịch đồ, và độ đứt gãy DNA tinh trùng. Sự thay đổi của tình trạng stress oxy hoá tinh dịch sau điều trị cũng được ghi nhận. Chúng tôi không đánh giá các kết quả xa hơn như kết quả có thai, hoặc kết quả điều trị vô sinh bằng phương pháp thụ tinh nhân tạo, hoặc thụ tinh trong ống nghiệm bởi vì các đặc điểm khác nhau của người vợ, và sự khác biệt về quá trình điều trị vô sinh sau đó sẽ là các yếu tố nhiễu lớn gây nên sai lệch trong khi phân tích hiệu quả điều trị.

Ngoài ra, chúng tôi đã tư vấn bệnh nhân về việc phối hợp thay đổi các hoạt động trong đời sống có thể ảnh hưởng đến chức năng sinh sản nam giới. Sự thay đổi về yếu

tổ lối sống như: ngừng hút thuốc, ngừng rượu bia, chế độ ăn lành mạnh... có thể hỗ trợ cải thiện đáng kể chức năng sinh sản ở nam giới [92]. Nhằm tránh các yếu tố nhiễu mang đến cho nghiên cứu, chúng tôi kiểm soát việc thay đổi các yếu tố lối sống bằng cách khai thác kỹ việc điều chỉnh chế độ lối sống của bệnh nhân. Tuy nhiên, một số yếu tố lối sống rất khó để đánh giá chính xác như chế độ ăn, chế độ tập luyện, sự phơi nhiễm với môi trường độc hại...

Việc thiết kế nghiên cứu đánh giá hiệu quả điều trị trước và sau sử dụng thuốc thông qua sự thay đổi các chỉ số chất lượng tinh trùng vẫn có giá trị trong việc thể hiện những lợi ích của việc điều trị. Mặc dù, đối với các thử nghiệm lâm sàng, nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng mù đôi ngẫu nhiên có nhóm chứng mới là thiết kế tin cậy nhất để đưa ra kết luận cuối cùng. Tuy vậy, trong quá trình điều trị, chúng tôi cho rằng việc điều trị giả dược đối với bệnh nhân vô sinh có thể làm kéo dài thời gian điều trị mà không mang lại bất cứ lợi ích nào cho bệnh nhân khi tham gia vào nghiên cứu. Do đó, chúng tôi chấp nhận sử dụng phương pháp thiết kế so sánh trước và sau điều trị nhằm đánh giá hiệu quả của quá trình điều trị.

4.1.2. Bàn luận về kỹ thuật đánh giá stress oxy hoá - khử tinh dịch

Chúng tôi đã lựa chọn phương pháp cân bằng thể oxy hoá - khử nhằm đánh giá tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch. Cho đến nay, có rất nhiều các kỹ thuật giúp đánh giá tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch [125]. Tuy vậy, các phương pháp trước đó đều có khá nhiều nhược điểm như: phức tạp, kinh phí cao, thời gian thực hiện kéo dài, cần một số lượng lớn thể tích tinh dịch để tiến hành phân tích, và chỉ đánh giá được một khía cạnh nhất định về độ cân bằng oxy hoá - khử trong tinh dịch. Trong khi đó, thực tế là sự cân bằng oxy - khử trong tinh dịch mới là yếu tố quan trọng nhất nhằm duy trì sự hoạt động ổn định của tinh trùng trong tinh dịch. Vì vậy, phương pháp đo cân bằng thể oxy hoá - khử bằng hệ thống MiOXSYS đã được sử dụng trong nghiên cứu này với các ưu điểm như: rẻ tiền, thực hiện nhanh, dễ sử dụng, cần mẫu thể tích tinh dịch rất nhỏ. Thực tế, phương pháp thường được sử dụng khá rộng rãi trong các nghiên cứu ở phòng thí nghiệm về stress oxy hoá là phương pháp quang hoá học. So với phương pháp này, giá cả để tiến hành một lần đo cân bằng thể oxy hoá - khử bằng hệ thống MiOXSYS

chỉ là 2.500.000 đồng, trong khi phương pháp quang hoá học cần một hệ thống phân tích lên đến 750.000.000 đồng. Ngoài ra, các nghiên cứu đa trung tâm với dữ liệu lớn trên thế giới gần đây đều tập trung đánh giá stress oxy hoá tinh dịch bằng phương pháp đo cân bằng thể oxy hoá - khử. Đây hứa hẹn là một kỹ thuật độc lập có thể phối hợp với tinh dịch đồ giúp đánh giá chức năng sinh sản ở nam giới, và có thể sẽ được khuyến cáo áp dụng rộng rãi trên lâm sàng trong tương lai sắp tới.

4.2. KHẢO SÁT ẢNH HƯỞNG CỦA STRESS OXY HOÁ LÊN CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG DỰA VÀO KẾT QUẢ TINH DỊCH ĐỒ, ĐÚT GẤY DNA TINH TRÙNG Ở CÁC TRƯỜNG HỢP VÔ SINH

4.2.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Độ tuổi trung bình: Theo **bảng 3.1**, nhóm nghiên cứu có độ tuổi trung bình là $34,72 \pm 5,57$ tuổi. Tuổi trung bình của nhóm nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với một số nghiên cứu khác trong và ngoài nước. Một nghiên cứu gần đây của tác giả Lê Minh Tâm và cộng sự trên nhóm bệnh nhân nam giới vô sinh mắc hội chứng chuyển hoá có độ tuổi trung bình là $34,7 \pm 6,3$ tuổi. Với tỷ lệ nam giới dưới 35 tuổi chiếm ưu thế hơn với 54,5% so với 45,5% ở nhóm trên 35 tuổi. [91]. Tương tự, nghiên cứu của Nguyễn Đắc Nguyên năm 2021 trên nhóm vô sinh nguyên phát có độ tuổi người chồng là $34,20 \pm 4,93$ tuổi [3]. Một nghiên cứu nước ngoài khác cũng cho thấy độ tuổi trung bình của nam giới vô sinh dao động từ $32,2 \pm 7,0$ đến $34,1 \pm 6,1$ tuổi [122]. Nhìn chung, nam giới vô sinh trong nghiên cứu của chúng tôi có độ tuổi trung bình tương đương với nhiều nghiên cứu khác nhau, điều này cho thấy sự tiếp cận khám và điều trị vô sinh ở bệnh nhân là khá tốt.

Phân loại vô sinh: Theo **biểu đồ 3.1**, nhóm vô sinh nguyên phát chiếm tỷ lệ 58,7%; trong khi đó vô sinh thứ phát chiếm tỷ lệ thấp hơn với 41,3%. Kết quả của chúng tôi khá tương đồng với dữ liệu từ của tác giả Phạm Chí Kông: Vô sinh nguyên phát chiếm 70,9%, trong khi vô sinh thứ phát chỉ chiếm 29,1% [119].

Thói quen hút thuốc lá: Theo **bảng 3.2**, bệnh nhân có tiền sử hút thuốc chiếm tỷ lệ 37,6%, với số lượng thuốc hút trung bình là $6,43 \pm 6,40$ gói x năm. Kết quả này khá tương đồng với một nghiên cứu năm 2021 cho thấy tỷ lệ hút thuốc ở nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh nguyên phát là 34,07% [3]. Một phân tích cỡ mẫu lớn ở nước ngoài

gần đây lại cho thấy tỷ lệ hút thuốc chung ở nam giới đang có xu hướng giảm dần theo thời gian từ 2003 - 2014: từ 9,05% giảm còn 4,78% [107]. Điều này cho thấy tỷ lệ hút thuốc ở nhóm nam giới vô sinh khá lớn, và rõ ràng hút thuốc lá đã được chứng minh có những tác động bất lợi đến chức năng sinh sản ở nam giới [36], [114].

Thói quen uống rượu: Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ có uống rượu/bia chiếm 76,9%. Tỷ lệ tương ứng với nghiên cứu khác của tác giả Nguyễn Đắc Nguyên cho thấy 72,53% nam giới ở cặp vợ chồng vô sinh có thói quen sử dụng rượu bia [3]. Với tỷ lệ uống rượu/bia cao ở nam giới vô sinh, đây sẽ là những yếu tố ảnh hưởng rất bất lợi đến chất lượng tinh trùng và hiệu quả điều trị trên nhóm bệnh nhân này.

Tiền sử bệnh lý: Bảng 3.2 cho thấy bệnh nhân có tiền sử mắc quai bị là 19,1 % chiếm tỷ lệ cao nhất. Theo một nghiên cứu khác gần đây tương tự trên nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh, tỷ lệ tiền sử quai bị là 18,7%; tỷ lệ tiền sử phẫu thuật liên quan đến vùng bẹn và bìu là 8,8% [3] - tương tự với kết quả trong nghiên cứu chúng tôi. Một phân tích khác cũng cho thấy giãn tĩnh mạch tinh có tỷ lệ cao đặc biệt ở nhóm bệnh nhân vô sinh: 35% ở bệnh nhân vô sinh nguyên phát, nhưng lên đến 69-81% ở bệnh nhân vô sinh thứ phát [86]. Tình trạng giãn tĩnh mạch tinh là một vấn đề đã được chứng minh có những tác động bất lợi với chức năng sinh sản nam giới, có thể thông qua cơ chế gây đứt gãy DNA và stress oxy hoá [162], và đã khuyến cáo cần được tư vấn điều trị một cách cá thể hoá đối với từng trường hợp vô sinh mắc giãn tĩnh mạch tinh.

4.2.2. Đặc điểm lâm sàng

Đặc điểm nhân trắc học: Trong nghiên cứu này, các đặc điểm nhân trắc học của bệnh nhân dường như nằm trong giới hạn bình thường của quần thể người Châu Á (Bảng 3.3). Ví dụ: Các chỉ số vòng bụng và vòng mông trung bình lần lượt là 85,34 cm và 96,43 cm. Tuy nhiên, chỉ số BMI của nhóm nghiên cứu hiện đang xếp vào nhóm thừa cân là $23,34 \pm 2,71 \text{ kg/m}^2$. So sánh với kết quả nghiên cứu của tác giả Lê Thị Thuận Mỹ trên quần thể nam giới vô sinh, chỉ số BMI trung bình có giá trị tương tự là $22,44 \pm 2,76 \text{ kg/m}^2$; vòng bụng trung bình và vòng mông trung bình lần lượt là 82,00 cm và 94,72 cm [2]. Tương tự, nhóm nam giới có kết quả tinh dịch đồ bình thường và bất thường trong một nghiên cứu khác có chỉ số BMI lần lượt là $23,3 \text{ kg/m}^2$ và $23,2 \text{ kg/m}^2$ [3]. Có thể nhận thấy, các đặc điểm chung của bệnh nhân gần như trong

các giới hạn bình thường ngoại trừ giá trị BMI, từ đó có thể gợi ý khả năng tỷ lệ mắc các rối loạn về mặt chuyển hoá sẽ khá thấp trong nghiên cứu của chúng tôi. Tuy vậy, khi so sánh với các nghiên cứu nước ngoài, kết quả này của chúng tôi có phần thấp hơn rõ rệt. Mặc dù giá trị BMI được xếp vào nhóm thừa cân nhưng mức độ BMI vẫn còn khá thấp khi so với nguồn dữ liệu trên thế giới. Hơn nữa, giá trị BMI ở nhóm bệnh nhân điều trị ở mục tiêu 2 vẫn đang nằm trong giới hạn bình thường. Theo dữ liệu từ một phân tích cỡ mẫu rất lớn trên 1169 nam giới vô sinh, chỉ số BMI trung bình là 26,8 kg/m²; vòng hông và vòng bụng lần lượt là 100,9 và 94,8 cm; và tình trạng tăng BMI hay các chỉ số như vòng bụng, vòng hông, cân nặng đều có những tác động bất lợi cho chất lượng tinh trùng [85]. Sự khác biệt này có thể do những khác biệt về mặt chủng tộc, hơn nữa, đặc điểm dịch tễ bệnh học của quần thể nghiên cứu cũng có sự khác nhau.

Đặc điểm cơ quan sinh dục: Kết quả thăm khám lâm sàng đánh giá cơ quan sinh dục ngoài ở nhóm nghiên cứu nằm trong giới hạn bình thường với tỉ lệ cao (**Bảng 3.6**). Tỷ lệ các bệnh nhân không phát hiện các bất thường về cơ quan sinh dục là khá cao. Theo một nghiên cứu gần đây của tác giả Lê Minh Tâm năm 2020, các trường hợp nam giới vô sinh được khảo sát các đặc điểm của tinh hoàn qua siêu âm. Thể tích trung bình của tinh hoàn phải và trái lần lượt là 8.87 ± 2.24 mL, và 8.77 ± 2.27 mL [89]. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn khá rõ rệt, điều này có thể liên quan đến sự khác biệt trong phương thức đánh giá thể tích tinh hoàn. Hơn nữa, một vài trường hợp trong nghiên cứu của tác giả có tình trạng teo tinh hoàn, điều này ảnh hưởng đến kết quả thể tích tinh hoàn trung bình của quần thể nghiên cứu. Tuy vậy, so sánh với các ngưỡng cắt về thể tích tinh hoàn bình thường, kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi về thể tích trung bình là khá thấp. Theo một nghiên cứu đánh giá về liên quan đặc điểm tinh hoàn với kết quả tinh dịch đồ, điểm cắt thể tích tinh hoàn dưới 12 mL có thể giúp phân biệt các trường hợp tinh dịch đồ bình thường hoặc bất thường [53].

Đặc điểm chức năng tình dục: Theo **bảng 3.8**, bệnh nhân trong quần thể nghiên cứu có tỷ lệ 25,1% có rối loạn cương ở mức độ nhẹ. Thang điểm IIEF trung

bình đạt $62,49 \pm 9,54$ điểm. Rõ ràng, đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu có tỷ lệ mắc các rối loạn về chức năng tình dục là khá thấp. Tương ứng với các đặc điểm riêng lẻ đánh giá chức năng tình dục, chúng tôi nhận thấy các rối loạn đơn lẻ chiếm tỷ lệ khá cao (trên 50%). Rõ ràng, bệnh nhân vẫn có khả năng cương và đạt khoái cảm, nhưng những thoả mãn về chất lượng đời sống tình dục là chưa cao. Khi so sánh với một số các nghiên cứu khác tương tự, nghiên cứu khác gần đây cho thấy tỷ lệ mắc rối loạn chức năng tình dục là 51,9% với rối loạn tình trạng cương lên đến 46,9% [47]. Sự khác biệt có thể do quần thể nghiên cứu khác nhau và độ tuổi trung bình có sự khác biệt giữa các nghiên cứu. Một nghiên cứu khác gần đây ghi nhận những kết quả xa hơn như kết cục thai kỳ và tỷ lệ sảy thai liệu có liên quan đến tình trạng rối loạn cương hay không? Nghiên cứu này cho thấy các chỉ số tinh dịch đồ có sự tương quan rõ rệt với thang điểm IIEF-5 [169].

4.2.3. Đặc điểm cận lâm sàng

Siêu âm bìu: Trên hình ảnh siêu âm, thể tích trung bình tinh hoàn trái và phải lần lượt là $12,52 \pm 3,00$ và $13,12 \pm 3,31$ mL; chỉ số trở kháng động mạch trung tâm tinh hoàn trái và phải tương đương nhau với 0,55 và 0,57 (**Bảng 3.7**). Chúng tôi nhận thấy rằng thể tích tinh hoàn khi đánh giá trên hình thái siêu âm có giá trị lớn hơn thông qua đánh giá chủ quan từ khám lâm sàng bằng thước đo Prader. Theo tác giả Lê Minh Tâm và cộng sự, thể tích trung bình của tinh hoàn phải và trái khi khảo sát qua siêu âm trên các bệnh nhân từ cặp vợ chồng vô sinh lần lượt là 8.87 ± 2.24 mL, và 8.77 ± 2.27 mL [89]. Ngoài ra, các chỉ số khác như trở kháng tinh hoàn phải và trái lần lượt là 0,61 và 0,59; chỉ số PSV tinh hoàn phải và trái là 5,24 và 5,33 m/s; chỉ số EDV ở hai tinh hoàn tương đương nhau với 2,19 so với 2,22 m/s. Mặc dù thể tích tinh hoàn trong nghiên cứu của chúng tôi có phần lớn hơn so với kết quả từ tác giả Lê Minh Tâm, nhưng các chỉ số khác như RI, PSV, EDV lại có giá trị tương tự nhau và có sự tương đồng giữa hai tinh hoàn. Một nghiên cứu khác trên nhóm bệnh nhân vô tinh lại cho thấy thể tích tinh hoàn ở bệnh nhân vô tinh tắc nghẽn là dao động từ 14,32 - 14,60 mL ở hai tinh hoàn, và cao hơn một cách rõ rệt khi so sánh với thể tích ở nhóm vô tinh không do tắc nghẽn chỉ với 4,67 - 4,69 mL [87]. Rõ ràng, thể tích tinh

hoàn là một chỉ số rất có giá trị giúp tiên lượng khả năng sinh tinh ở tinh hoàn. Các trường hợp vô tinh không do tắc nghẽn thường có sự rối loạn sinh tinh tại các ống sinh tinh, và biểu hiện lâm sàng thường gặp là sự sụt giảm về thể tích tinh hoàn. Ngược lại, các chỉ số đánh giá Doppler mạch máu tinh hoàn khác như RI, PSV, EDV đã được nghiên cứu trước đây vẫn chưa nhận thấy những mối liên quan chặt chẽ đến chất lượng của tinh trùng thể hiện ở các chỉ số tinh dịch đồ [143].

Đặc điểm sinh hoá máu - Hội chứng chuyển hoá: Quần thể bệnh nhân của chúng tôi có đặc điểm các chỉ số sinh hoá máu trong giới hạn bình thường. Chúng tôi đã xác định được có 94 trường hợp (26,8%) được chẩn đoán mắc tình trạng hội chứng chuyển hoá (**Bảng 3.5**). Với các tỷ lệ nêu trên, có thể nhận thấy rằng tình trạng hội chứng chuyển hoá trong quần thể nghiên cứu của chúng tôi là khá lớn. Đây có thể là một yếu tố tiềm tàng ảnh hưởng đến chức năng sinh sản và chất lượng tinh dịch ở các bệnh nhân nam giới vô sinh.

Kết quả từ một nghiên cứu khác năm 2019 cho thấy tỷ lệ mắc hội chứng chuyển hoá ở nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh là 25,1%; trong đó, nhóm có tăng triglycerid chiếm tỷ lệ cao nhất với 60,6%; tỷ lệ tăng huyết áp lại có giá trị thấp nhất với 9,5% [9]. Mặc dù tỷ lệ hội chứng chuyển hoá tương đương với nghiên cứu của chúng tôi, nhưng tỷ lệ xuất hiện các thành tố của hội chứng chuyển hoá có sự khác biệt giữa hai nghiên cứu. Một nghiên cứu khác cỡ mẫu lớn hơn trên 534 trường hợp nam giới vô sinh cũng cho thấy tỷ lệ mắc hội chứng chuyển hoá là 23,4%; và từ đó có tỷ lệ tinh dịch đồ bất thường lên đến 93,8% [91]. Nghiên cứu này đã nhận thấy mối tương quan thuận về chỉ số vòng bụng, vòng hông, huyết áp tâm thu với tỷ lệ bất thường đầu tinh trùng và chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng thông qua phương pháp Halo test. Hội chứng chuyển hoá đã được chứng minh rất thuyết phục về các tác động bất lợi lên chất lượng tinh trùng. Một nghiên cứu mô tả cắt ngang gần đây cũng tương tự khẳng định sự tương quan chặt chẽ giữa độ bền vững DNA tinh trùng và chỉ số BMI bệnh nhân [88].

Đặc điểm về kết quả tinh dịch đồ: Chúng tôi nhận thấy kết quả tinh dịch đồ bình thường trong nghiên cứu của chúng tôi khá thấp (**Bảng 3.11**): Tỷ lệ các trường hợp có kết quả tinh trùng hình thái bình thường, mật độ tinh trùng và tỷ lệ tinh trùng

sống đạt yêu cầu dao động ở mức 14,8%; 79,2%; và 98,6%. Khi so sánh với một số các nghiên cứu liên quan như nghiên cứu năm 2021 trên nhóm các trường hợp vô sinh nguyên phát, tỷ lệ xuất hiện các bất thường về mặt tinh dịch đồ ở nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh là 78%, trong đó, 12,1% các trường hợp là nhược tinh, tinh trùng dị dạng chiếm 12,1%, và phối hợp nhiều bất thường chiếm tỷ lệ lên đến 41,8% [3]. Một nghiên cứu khác gần đây của tác giả Temesgen và cộng sự cho thấy trên các trường hợp nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh có tỷ lệ xuất hiện các rối loạn về các chỉ số tinh dịch đồ theo tiêu chuẩn của WHO như sau: tổng số lượng tinh trùng với 48,9%; tỷ lệ hình thái bình thường với 27,5%; tỷ lệ tinh trùng di động với 43,5%; và tỷ lệ tinh trùng sống với 67,2% [154]. 84% các trường hợp có xuất hiện ít nhất một đặc điểm bất thường trên tinh dịch đồ, và tinh trùng yếu, dị dạng là hình thái bất thường thường gặp nhất với tỷ lệ 43,5%. Một nghiên cứu tương tự cũng nhận thấy tỷ lệ xuất hiện các bất thường về chỉ số tinh dịch đồ ở ngưỡng rất cao là 86,8%; trong đó bất thường về hình thái chiếm tỷ lệ cao nhất với 40,7%; và 30,5% các trường hợp là phối hợp nhiều loại bất thường khác nhau trên tinh dịch đồ [33].

Tóm lại, đối với quần thể nam giới từ các trường hợp vô sinh, tỷ lệ xuất hiện tinh dịch đồ bất thường dao động ở ngưỡng cao, trong đó các rối loạn thường gặp là bất thường về hình thái tinh trùng và bất thường về độ di động tinh trùng. Chúng tôi cho rằng sự rối loạn về chất lượng tinh trùng thể hiện qua các chỉ số tinh dịch đồ là một trong những yếu tố hàng đầu gây ra sự khó khăn trong khả năng mang thai ở các cặp vợ chồng vô sinh.

Đặc điểm về phân mảnh DNA tinh trùng: Khi sử dụng phương pháp phân tán chất nhuộm sắc (Halosperm) nhằm đánh giá tình trạng đứt gãy DNA tinh trùng, chúng tôi có được kết quả DFI trung bình là $20,24 \pm 10,46 \%$ (ở ngưỡng đứt gãy mức độ trung bình). Bệnh nhân có độ đứt gãy cao nhất là 68,8% và thấp nhất là 2,22% (**Bảng 3.12**). Phương pháp phân tán chất nhuộm sắc là một trong những phương pháp thường được sử dụng về mặt lâm sàng nhằm xác định độ bền vững DNA tinh trùng [61]. Phương pháp này đã được khuyến cáo có thể ứng dụng một cách thường quy trên lâm sàng nhằm đánh giá các trường hợp có chỉ định cần phân tích tính bền vững DNA tinh trùng. Tuy nhiên, phương pháp này vẫn có một số nhược điểm như mang tính

đánh giá chủ quan của chuyên viên phôi học. Nhằm hạn chế các yếu tố nhiễu này, chúng tôi yêu cầu có 2 chuyên viên đánh giá trực tiếp trên cùng một mẫu và so sánh đối chiếu kết quả với nhau, bên cạnh đó, quá trình đánh giá phân tán chất nhuộm sắc cũng được lưu trữ hình ảnh để có thể phân tích lại nếu cần thiết.

So sánh với một số nghiên cứu khác về sự phân mảnh DNA tinh trùng, chúng tôi có dữ liệu tổng hợp tại **bảng 4.1** về các nghiên cứu đánh giá đứt gãy DNA tinh trùng và kết quả thu được [31].

Bảng 4.1. Kết quả một số nghiên cứu về đứt gãy DNA tinh trùng và các tác động lên chất lượng tinh trùng

Nghiên cứu	Phương pháp đánh giá	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả thu được
Le Minh Tam và cộng sự (2019) [90]	Phân tán chất nhuộm sắc	Nam giới vô sinh	DFI có mối tương quan thuận với tỷ lệ bất thường đầu tinh trùng với $r=0,202$; $p=0,0003$, và tương nghịch với tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới với $r=-0,168$; $p=0,0027$.
Zandieh và cộng sự (2018)	Phân tán chất nhuộm sắc	Nam giới vô sinh không rõ nguyên nhân, và nam giới chức năng sinh sản bình thường	Ở nhóm nam giới vô sinh, tỷ lệ tinh trùng di động thấp hơn với 51,23% so với 70,35% ở nhóm chứng. Tương tự, tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường cũng thấp hơn với 6,88% so với 13,03%.

Nghiên cứu	Phương pháp đánh giá	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả thu được
Carlini và cộng sự (2017)	TUNEL	Nam giới chức năng sinh sản bình thường, và nam giới từ cặp vợ chồng có tiền sử sảy thai liên tiếp	DFI trung bình ở nhóm có tiền sử sảy thai cao hơn 8% so với nhóm có chức năng sinh sản bình thường
Atig và cộng sự (2017)	TUNEL	Nam giới chức năng sinh sản bình thường, nam giới vô sinh	DFI có mối tương quan nghịch với tỷ lệ tinh trùng di động ($r = -0,54$, $P < 0,001$), và tương quan thuận với tỷ lệ tinh trùng bất thường hình thái ($r = 0,57$, $P = 0,002$).

Ngoài ra, một phân tích tổng hợp trên 28 nghiên cứu đã kết luận rằng ngưỡng 20% có thể được sử dụng đối với các phương pháp SCSA, TUNEL, SCD để phân biệt nhóm nam giới có chức năng sinh sản bình thường và bất thường (độ nhạy: 79%, độ đặc hiệu: 86%; AUC: 0,844) [139]. Tuy vậy, giữa các nghiên cứu vẫn có sự dao động nhỏ về ngưỡng chẩn đoán này. Hiệp hội sinh sản và Phôi học Châu Âu (ESHRE - European Society for Human Reproduction and Embryology) cũng nhận định rằng SDF cao ở nam giới có mối liên quan chặt chẽ với tình trạng sảy thai liên tiếp và khuyến cáo các biện pháp nhằm giảm SDF để hạn chế tình trạng sảy thai ở các chu kỳ điều trị tiếp theo [132]. Gần đây, vào năm 2020, Hội Nội học Châu Âu (EAU - European Association of Urology) cho rằng xét nghiệm SDF cần được thực hiện ở các trường hợp sau: cặp vợ chồng vô sinh mắc sảy thai liên tiếp ở các chu kỳ tự nhiên, IUI và IVF/ICSI; và nam giới vô sinh không rõ nguyên nhân [59]. Rõ ràng, với kết

quả DFI cao ở quần thể nam giới trong nghiên cứu này của chúng tôi, việc can thiệp cải thiện độ bền vững DNA tinh trùng là một cách tiếp cận rất cần thiết, đặc biệt ở những trường hợp có rối loạn nặng chất lượng tinh trùng.

Đặc điểm về stress oxy hoá: Chúng tôi sử dụng phương pháp đo cân bằng thể oxy hoá - khử để đánh giá tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch. Chúng tôi nhận thấy có 213 trường hợp (60,7%) có kết quả ORP cao hơn 1,34 mV/triệu tinh trùng/mL; 138 trường hợp (39,3%) có kết quả ORP thấp hơn ngưỡng trên. Giá trị của độ cân bằng thể oxy hoá - khử là 1,08 mV/triệu tinh trùng/mL (**Bảng 3.10**). Khi so sánh với ngưỡng giá trị của ORP nhằm phân biệt các trường hợp có tinh dịch đồ bất thường [16], kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi được xếp vào nhóm không tăng tình trạng stress oxy hoá trong mẫu tinh dịch. Một số nghiên cứu khác tương tự sử dụng phương pháp đo cân bằng thể oxy hoá - khử nhằm khảo sát tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch đã cho những dữ liệu khá khác biệt nhau (**Bảng 4.2**).

Bảng 4.2. Giá trị ORP trong tinh dịch ở nam giới

Nghiên cứu	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả thu được
Takashi và cộng sự (2019) [152]	Nam giới chức năng sinh sản bình thường, và nam giới giãn tĩnh mạch tinh	Giá trị ORP trung bình ở nam giới chức năng sinh sản bình thường là 1.14 ± 1.78 mV/1 triệu tinh trùng/mL; giá trị ORP trung bình ở nam giới giãn tĩnh mạch tinh là $4,02 \pm 7,56$ mV/1 triệu tinh trùng/mL.
Kazuhisa và cộng sự (2023) [155]	Nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh được chỉ định IVF	Giá trị ORP trung bình là 3,4 mV/1 triệu tinh trùng/mL.

Nghiên cứu	Đối tượng nghiên cứu	Kết quả thu được
Majzoub và cộng sự (2020) [95]	Các trường hợp nam giới vô sinh và nhóm chứng	Giá trị ORP trung bình ở nhóm nam giới vô sinh là 1,8 mV/1 triệu tinh trùng/mL, ở nhóm chứng là 0,9 mV/1 triệu tinh trùng/mL.
Sergio và cộng sự [64]	Nam giới vô sinh không rõ nguyên nhân	Giá trị ORP trung bình là $3,02 \pm 9,50$ mV/1 triệu tinh trùng/mL.
Elbardisi và cộng sự [58]	Nam giới vô sinh	Giá trị ORP trung bình là 2,94 mV/1 triệu tinh trùng/mL.

Các kết quả từ nghiên cứu trước đây sử dụng cân bằng thế oxy hoá - khử nhằm đánh giá tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch được công bố tại các thời điểm rất gần đây, điều này chứng tỏ việc đánh giá stress oxy hoá, đặc biệt là sử dụng phương pháp đo cân bằng thế oxy hoá - khử đang nhận được sự quan tâm lớn trên thế giới. Các kết quả có sự dao động lớn từ giá trị thấp như 0,9 mV/triệu tinh trùng/mL ở nghiên cứu của Majzoub và cộng sự [95], cho đến giá trị lớn hơn nhiều như ở nghiên cứu của Takashi và cộng sự [152] với 4,02 mV/triệu tinh trùng/mL ở nhóm bệnh nhân nam giới giãn tĩnh mạch tinh. Rõ ràng, các giá trị ORP trung bình khác nhau ở đây là do các quần thể nghiên cứu có những đặc điểm khác nhau. Các rối loạn ảnh hưởng đến khả năng sinh tinh khác như yếu tố lối sống, bệnh lý tại đường sinh dục, hội chứng chuyển hoá, nhiễm trùng... đã được chứng minh gây suy giảm chất lượng tinh trùng thông qua cơ chế gây nên stress oxy hoá trong tinh dịch [21], [23], [24], [28].

Trong nghiên cứu này của chúng tôi, chúng tôi đã sử dụng ngưỡng 1,34 mV/triệu tinh trùng/mL nhằm phân biệt các trường hợp được xem là có ORP cao hay ORP thấp theo một nghiên cứu cỡ mẫu lớn đa trung tâm gần đây [19]. Đây là ngưỡng

phân biệt đã được sử dụng khá rộng rãi ở nhiều nghiên cứu khác trước đây. Tuy vậy, bởi vì chưa có khuyến cáo cụ thể về ngưỡng chẩn đoán ORP cao từ các Hiệp hội Y tế trên thế giới, do đó, việc sử dụng ngưỡng chẩn đoán này theo một nghiên cứu khác có thể sẽ dẫn đến tỷ lệ các trường hợp ORP cao thật sự trong nghiên cứu của chúng tôi có sự sai số.

4.2.4. Các yếu tố liên quan đến stress oxy hoá

Đặc điểm chung và các yếu tố lối sống: Theo **Bảng 3.14** một số yếu tố như tiền sử hút thuốc lá, và tiền sử uống rượu bia thường xuyên lại chưa nhận thấy mối liên quan với stress oxy hoá trong tinh dịch. Sự kích thích nhiệt độ vùng bìu có thể gây nên các tác động bất lợi đối với chức năng sinh lý và tổng hợp tinh trùng [171]. Stress nhiệt gây chết các tế bào mầm theo chương trình, gây giảm khả năng di động, hình thái bình thường và khả năng sinh sản ở nam giới [145]. Các yếu tố liên quan đến sự kích thích nhiệt vùng bìu như bệnh giãn tĩnh mạch tinh, béo phì là những yếu tố nguy cơ đã được chứng minh gây ảnh hưởng chất lượng tinh trùng thông qua cơ chế kích thích nhiệt [103].

Theo một phân tích tổng hợp gần đây, dữ liệu cho thấy sự phơi nhiễm với các yếu tố bất lợi trong công việc, và tiếp xúc với hoá chất là những tác động rất bất lợi đến chức năng sinh sản ở nam giới [110]. Theo một phân tích tổng hợp, sự xuất hiện nồng độ cao aflatoxin trong mẫu tinh dịch nam giới sẽ gây xuất hiện sự thay đổi bất thường về chỉ số tinh dịch đồ với tỷ lệ 50% so với các trường hợp nam giới bình thường khác chỉ với 10-15% [144]. Tuy vậy, trong nghiên cứu này của chúng tôi, các dữ liệu về yếu tố lối sống khác đã không được khảo sát một cách chi tiết.

Khi đánh giá về nguy cơ ảnh hưởng của tiền sử hút thuốc lá hay uống rượu/bia, chúng tôi kỳ vọng nhận thấy mối liên quan rõ rệt, tuy vậy, các mối liên quan của các yếu tố này trong nghiên cứu của chúng tôi lại chưa có ý nghĩa về thống kê. Stress oxy hoá đã được chứng minh là một trong những cơ chế chính gây nên tình trạng này ở các bệnh nhân có tiền sử nghiện thuốc lá và rượu bia [135]. Một phân tích gần đây trên các chất chống oxy hoá trong tinh dịch như chỉ số SOD, CAT, GPX và tỷ lệ sản xuất gốc oxy hoá đã nhận thấy việc hút thuốc lá và rượu bia làm sụt giảm nồng độ các chất

chống oxy hoá trong tinh dịch, và làm tăng lên sự sản xuất của các gốc oxy hoá, dẫn đến sự bất thường nặng nề về hình thái của tinh trùng [115].

Đặc điểm tinh hoàn: Chúng tôi nhận thấy các trường hợp tinh hoàn có mật độ quá mềm thì có tỷ lệ ORP cao là lớn hơn so với nhóm có mật độ tinh hoàn bình thường (80,0% so với 38,1% ở nhóm mật độ tinh hoàn bình thường, $p = 0,016$). Ngoài ra, thể tích tinh hoàn đánh giá qua siêu âm cũng nhận thấy mối tương quan nghịch với chỉ số ORP trong tinh dịch (**Bảng 3.17**). Như vậy, rõ ràng là các đặc điểm lâm sàng của tinh hoàn như mật độ thấp, tinh hoàn nhỏ đều có mối liên quan với tình trạng stress oxy hoá tinh dịch thể hiện ở chỉ số ORP tinh dịch cao hơn một cách đáng kể.

Thể tích và mật độ tinh hoàn đã được chứng minh là một trong những thông số rất quan trọng nhằm tiên lượng chất lượng tinh trùng. Nhiều nghiên cứu trên các mô hình động vật cho thấy thể tích tinh hoàn có liên quan rõ rệt với các chỉ số đánh giá chất lượng tinh trùng [45]. Một nghiên cứu gần đây cho thấy mật độ tinh hoàn trên siêu âm càng tối thì mẫu tinh trùng càng tốt, và ngược lại, các trường hợp có mật độ quá sáng thường liên quan với sự stress oxy hoá tinh dịch và chất lượng tinh trùng thường kém hơn [48].

Đối với các nghiên cứu trên người, đã có nhiều nghiên cứu có những kết quả tương đồng. Một phân tích cỡ mẫu rất lớn trên 2230 các trường hợp nam giới cho thấy mô hình siêu âm dựa vào các đặc tính như mật độ tinh hoàn, các bất thường phát hiện được sẽ giúp tiên lượng được các trường hợp có rối loạn khả năng sinh tinh (AUC 0,73; độ nhạy 72%, độ đặc hiệu 61%, $P < 0,001$) [120]. Tác giả Spaggiari và cộng sự cũng đã nhận thấy rằng thể tích tinh hoàn ở những nam giới có suy giảm các chỉ số tinh dịch đồ và nam giới vô tinh là thấp hơn một cách rõ rệt khi so sánh với nam giới chức năng sinh sản bình thường ($p = 0,003$). Bên cạnh đó, mật độ tinh hoàn không đồng nhất thường gặp ở nam giới có tinh dịch đồ bất thường và nam giới vô tinh với tỷ lệ cao hơn hẳn (55,0%; $p = 0,007$; và 40,0%; $p = 0,012$) [149].

Vì vậy, sự kết hợp siêu âm bìu và khám lâm sàng sẽ cung cấp được các thông tin về chức năng sinh sản nam giới tốt hơn là việc chỉ khám lâm sàng đơn thuần. Nhìn chung, các nghiên cứu đánh giá về thể tích tinh hoàn và mật độ tinh hoàn nhằm tiên lượng khả năng sinh sản đã đưa ra những kết luận nhất quán.

Các bệnh lý liên quan: Trong nghiên cứu này, nam giới có tiền sử viêm tinh hoàn, tiền sử quai bị đều có kết quả ORP cao hơn so với nhóm không mắc các bệnh lý này trước đây. Tuy sự khác biệt này của chúng tôi chưa có ý nghĩa thống kê, nhưng với kết quả ban đầu này chúng tôi vẫn nhận thấy sự khác biệt của chỉ số ORP giữa các nhóm nghiên cứu vẫn khá lớn. Khi đánh giá các đặc điểm thăm khám hiện tại, chúng tôi vẫn nhận thấy được khác biệt rõ rệt giữa nhóm mắc bệnh lý giãn tĩnh mạch tinh và không mắc về chỉ số ORP: Bệnh nhân giãn tĩnh mạch tinh có tỷ lệ ORP cao là 49,5%, cao hơn so với nhóm không mắc giãn tĩnh mạch tinh (35,8%), $p=0,021$ (**Bảng 3.18**).

Một phân tích tổng hợp gần đây trên mô hình động vật đã cho thấy giãn tĩnh mạch tinh làm tăng rõ rệt chỉ số MDA {MSD: 15,61 (1,93; 29,29); $p=0.03$ }, và tương tự làm giảm các chỉ số tinh dịch đồ khác, và nhóm tác giả cũng nhận thấy sự tăng lên tình trạng đứt gãy DNA tinh trùng {MSD: 7,41 (1,23; 13,59); $p=0,02$ } [133]. Một nghiên cứu khác trên nhóm nam giới sau độ tuổi dậy thì có tình trạng giãn tĩnh mạch tinh đã kết luận rằng tình trạng giãn tĩnh mạch tinh làm tăng quá trình lipid peroxidase hoá tinh trùng. Đây là một trong những cơ chế gây bệnh chính do tình trạng stress oxy hoá gây nên [42]. Theo một phân tích gần đây về các cơ chế gây bệnh của giãn tĩnh mạch tinh, tác giả đã nhấn mạnh các cơ chế chính bao gồm sự gia tăng nhiệt độ tại chỗ, tình trạng thiếu oxy, tiếp xúc với các chất chuyển hóa độc hại ở thận và tuyến thượng thận cũng như stress oxy hóa, dẫn đến suy giảm khả năng sinh tinh, chỉ số tinh dịch đồ và bền vững DNA [62].

Đối với hội chứng chuyển hoá, chúng tôi đã tìm thấy nhiều dữ liệu liên quan khẳng định các tác động bất lợi lên hệ sinh sản nam giới thông qua cơ chế stress oxy hoá. Nhiệt độ bìu tăng do sự dày lên của các mô mỡ sẽ dẫn đến sản xuất nhiều OS hơn và làm giảm đi chất lượng tinh trùng và tăng đứt gãy DNA [40]. Tình trạng hội chứng chuyển hoá đặc biệt ở những người có BMI cao sẽ có những tác động bất lợi lên chất lượng tinh trùng [91]. Tác giả Lapik và cộng sự đã cho rằng bệnh nhân béo phì thường có sự thiếu hụt các vi chất như vitamin B, Kẽm, vitamin A, vitamin D... [80] Trong khi đó, đây là những cơ chế chống oxy hoá rất cần thiết nhằm đảm bảo sự cân bằng oxy hoá - khử trong môi trường tinh dịch. Việc thiếu hụt các chất

chống oxy hoá có thể gây suy giảm chất lượng của tinh trùng. Sử dụng các chất chống oxy hoá, cải thiện lối sống lành mạnh, tập luyện thể dục và chế độ ăn hợp lý nhằm kiểm soát cân nặng và BMI có thể giúp giảm OS và cải thiện chất lượng tinh trùng [92].

Tóm lại, các dữ liệu hiện có trong nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy mối liên quan giữa giãn tĩnh mạch tinh với tình trạng stress oxy hoá tinh dịch, các bệnh lý khác như hội chứng chuyển hoá, tiền sử quai bị, viêm tinh hoàn...chưa quan sát thấy mối liên quan này rõ rệt. Mặc dù kết quả ban đầu nhận thấy tỷ lệ stress oxy hoá cao là tăng lên trong nhóm có mắc các bệnh lý kể trên, nhưng với cỡ mẫu còn hạn chế, việc đánh giá rộng rãi hơn là cần thiết để làm rõ các ảnh hưởng của các bệnh lý này lên chất lượng tinh trùng thông qua cơ chế stress oxy hoá.

Chức năng tinh dục và rối loạn cương: Các đặc điểm về chức năng tinh dục có mối tương quan nghịch với mức độ ORP trong tinh dịch. Tuy vậy, sự tương quan có ý nghĩa về thống kê chỉ quan sát được ở đặc điểm sự thoả mãn toàn diện về chức năng tinh dục ($p = 0,045$) (**Bảng 3.19**). Theo tác giả Argawal, tình trạng stress oxy hoá trong hệ thống sinh sản nam giới là một trong những cơ chế gây nên sự rối loạn cương dương vật thông qua các con đường bệnh lý như: đái tháo đường, tăng huyết áp, tăng mỡ máu...Sự tăng sản xuất các gốc oxy hoá sẽ làm giảm đi nồng độ NO là một trong những nguyên nhân chính gây rối loạn cương ở nam giới [18]. Tuy vậy, các kết quả của nghiên cứu được tổng hợp chủ yếu từ các nghiên cứu in vivo, trong khi các dữ liệu trên lâm sàng còn rất hạn chế. Một phân tích dữ liệu gần đây kết luận rằng các tác nhân gây tăng sản xuất các gốc oxy hoá như sự phơi nhiễm với môi trường bởi các chất độc hại có thể gây ra các rối loạn về hoạt động cương dương vật ở nam giới [130].

Nhìn chung, khi xét trên khía cạnh tình trạng stress oxy hoá gây nên các rối loạn về chức năng tinh dục, thì các nghiên cứu hiện đang đánh giá một cách gián tiếp dựa vào các bệnh lý nội mạch là một trong những bệnh lý đã được chứng minh liên quan đến stress oxy hoá, trong khi các nghiên cứu trên lâm sàng và nghiên cứu can thiệp đang còn rất hạn chế. Kết quả ban đầu trong nghiên cứu của chúng tôi dựa vào thang điểm IIEF-15 chưa nhận thấy mối liên quan rõ rệt của tình trạng stress oxy hoá với tổng điểm IIEF.

4.2.5. Ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng

Kết quả tinh dịch đồ: Theo **bảng 3.21**, tinh dịch có thể tích bình thường có tỷ lệ ORP cao là 40,3% lớn hơn so với nhóm thể tích bất thường, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa ($p = 0,179$). Mật độ tinh trùng thấp có tỷ lệ stress oxy hoá cao hơn hẳn so với nhóm có mật độ tinh trùng bình thường (80,8% so với 28,4%, $p < 0,001$). Nhóm có stress oxy hoá có tỷ lệ bất thường đầu cao hơn với 96,8% so với 96,3% ở nhóm không có stress oxy hoá ($p = 0,032$). Tỷ lệ bất thường cổ - đuôi cao hơn với 50,24% so với 47,12% ($p < 0,001$). Như vậy, qua nghiên cứu của chúng tôi chỉ số ORP cao có mối liên quan với các rối loạn về chỉ số tinh dịch đồ, và thể hiện rõ ràng nhất là ở mật độ tinh trùng, và bất thường hình thái của tinh trùng.

Tình trạng stress oxy hoá tinh dịch đã được chứng minh gây nên các rối loạn về khả năng sinh tổng hợp và duy trì chức năng sinh lý bình thường của tinh trùng thông qua cơ chế gây đứt gãy DNA tinh trùng, gây chết tế bào, gây nên hiện tượng lipid peroxidase hoá [26]. Theo một phân tích tổng quan gần đây năm 2019, sự tăng lên về các gốc oxy hoá cùng với khả năng chống oxy hóa giảm sẽ dẫn đến tình trạng OS, dẫn đến peroxid hóa lipid màng tinh trùng, giảm khả năng vận động, tổn thương DNA tinh trùng, ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ mang thai và kết quả hỗ trợ sinh sản, và tăng nguy cơ mắc các bệnh di truyền ở các thế hệ sau [30]. Một nghiên cứu gần đây nhận thấy nam giới có kết quả tinh trùng di động kém thì nguy cơ xuất hiện SDF > 20% (mức độ tổn thương DNA tinh trùng cao) và ORP > 1,37 cao hơn đáng kể so với nhóm chứng là các trường hợp tinh trùng di chuyển bình thường. Nguy cơ tổn thương DNA tinh trùng và stress oxy hóa ở nam giới tinh trùng bất động cao hơn lần lượt là 10 lần và 6 lần so với nhóm chứng [69]. Tác giả Gill và cộng sự cũng đã cho rằng có mối liên quan giữa vô sinh nam, đứt gãy DNA tinh trùng và stress oxy hoá trong tinh dịch; ngoài ra, ở nam giới vô sinh có tình trạng tăng bạch cầu máu, SDF và stress oxy hoá tinh dịch có nguy cơ tăng lên đáng kể, do đó việc đánh giá SDF và stress oxy hóa cần phải tiến hành độc lập với tình trạng bạch cầu [70].

Đứt gãy DNA tinh trùng: theo **bảng 3.24**, nhóm không có stress oxy hoá trong tinh dịch có tổng số tinh trùng có quang halo trung bình cao hơn có ý nghĩa so với

nhóm có stress oxy hoá (318,00 so với 287,50; $p < 0,001$). Chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng ở nhóm không stress oxy hoá là tương đương với nhóm có stress oxy hoá ($p = 0,188$). Tuy vậy, khi chúng tôi chạy liên quan theo các giá trị định lượng, chỉ số ORP có mối tương quan nghịch với số lượng tinh trùng có quầng halo trung bình ($r = -0,186$; $p < 0,001$). Phần lớn các mối tương quan có ý nghĩa nằm ở mức độ yếu. Tương tự, các dữ liệu trước đây đã tìm thấy những ảnh hưởng bất lợi của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng thông qua con đường gây đứt gãy DNA tinh trùng.

Một nghiên cứu trên nam giới nhiễm các tác nhân gây bệnh đường sinh dục như Ureaplasma hoặc trùng roi đã nhận thấy các trường hợp có viêm sinh dục thường gây tăng tình trạng stress oxy hoá tinh dịch ($p < 0,001$), và từ đó có sự tăng lên đứt gãy DNA tinh trùng ($p < 0,001$) [75]. Tác giả Homa và cộng sự năm 2019 cho thấy mối liên quan nghịch giữa tổng các gốc oxy hoá, ORP, DFI với tỷ lệ tinh trùng di động ($p = 0,0012$; $0,0002$; $< 0,0001$) và tỷ lệ tinh trùng còn sống ($p < 0,0001$; $0,019$; $< 0,0001$) [76]. Chỉ số đứt gãy DNA tinh trùng tăng lên ở các trường hợp có stress oxy hoá chẩn đoán thông qua chỉ số tổng các gốc oxy hoá ($p = 0,0052$), hoặc ORP ($p = 0,004$). Nghiên cứu gần đây của tác giả Liu cũng tương tự nhận thấy tình trạng viêm đường sinh dục có thể gây tăng bạch cầu tinh dịch, đây là nguồn gốc chính gây nên stress oxy hoá tinh dịch và hậu quả làm tăng tình trạng đứt gãy DNA tinh trùng [94]. Một phân tích hồi cứu cỡ mẫu lớn trên 16 945 mẫu tinh dịch đã nhận thấy theo độ tuổi của bệnh nhân, tình trạng stress oxy hoá và sự đứt gãy có xu hướng tăng lên theo độ tuổi [158]. Nhóm tác giả ủng hộ tình trạng độ tuổi là một yếu tố nguy cơ của stress oxy hoá trong tinh dịch, và hệ quả xa hơn đó là suy giảm chất lượng tinh trùng và tăng đứt gãy DNA tinh trùng.

Điểm cắt chẩn đoán của ORP: Đường cong ROC đã được xử lý nhằm xác định điểm cắt của ORP để tiên lượng một số kết quả liên quan đến tinh dịch đồ (**Biểu đồ 3.2, biểu đồ 3.3**). Ngưỡng cắt của giá trị ORP nhằm phân biệt các trường hợp có bất thường về kết quả mật độ tinh trùng là 1,62 mV/triệu tinh trùng/mL với AUC: 0,84 (0,80 - 0,88), $p < 0,001$; độ nhạy là 82,20% và độ đặc hiệu là 66,20%.

Như vậy, các kết quả phân tích được trong nghiên cứu chúng tôi đã nhận thấy vai trò rõ rệt của chỉ số ORP trong tiên lượng chất lượng của tinh trùng, đặc biệt là đối với chỉ số mật độ tinh trùng với AUC = 0,84. Việc đánh giá điểm cắt của chỉ số

ORP nhằm tiên lượng giá trị bất thường của các chỉ số khác trên tinh dịch đồ hiện không nhận thấy có ý nghĩa về mặt thống kê. Các nghiên cứu khác trên thế giới thường sử dụng ORP nhằm phân biệt các trường hợp có kết quả tinh dịch đồ bất thường hoặc bình thường hơn là đánh giá riêng lẻ từng chỉ số trong kết quả tinh dịch đồ. So sánh với một số điểm cắt khác từ các nghiên cứu trước đây, chúng tôi có dữ liệu tổng hợp được ở **bảng 4.3**.

Bảng 4.3. Ngưỡng cắt của ORP tinh dịch nhằm tiên lượng chất lượng tinh trùng

Nghiên cứu	Ý nghĩa chẩn đoán	Ngưỡng cắt của ORP
Gill và cộng sự (2022) [70]	Phân biệt nam giới vô sinh và nam giới chức năng sinh sản bình thường	1,40 mV/triệu tinh trùng/mL (AUC = 0,857)
Agarwal và cộng sự (2019) [19]	Phân biệt nam giới có kết quả tinh dịch đồ bình thường và bất thường	Ngưỡng cắt 1,34 mV/1 triệu tinh trùng/mL với độ nhạy là 98,1%, độ đặc hiệu là 40,6%, giá trị tiên đoán dương là 94,7% và giá trị tiên đoán âm là 66,6% (AUC = 0.765)
Majzoub và cộng sự (2020) [95]	Phân biệt tinh dịch đồ có kết quả tổng số tinh trùng di động trên 20 triệu tinh trùng	Ngưỡng cắt 2,34 mV/1 triệu tinh trùng/mL với độ nhạy là 82,9%, độ đặc hiệu là 82,8%, giá trị tiên đoán dương là 91,5%, giá trị tiên đoán âm là 68,5% (AUC = 0,9)
Agarwal và cộng sự (2017) [22]	Phân biệt tinh dịch đồ có kết quả bình thường và bất thường	Ngưỡng cắt 1,36 mV/1 triệu tinh trùng/mL với độ nhạy là 69,6%, độ đặc hiệu là 83,1%, giá trị tiên đoán dương là 85,3%, giá trị tiên đoán âm là 65,9% (AUC = 0,770)

Nhìn chung, chúng tôi nhận thấy rằng chỉ số ORP có thể được sử dụng như là một chỉ số độc lập nhằm tiên đoán chất lượng tinh trùng. Giá trị ORP có ý nghĩa cao nhằm phân biệt các trường hợp tinh dịch đồ bất thường hay bình thường. So sánh với nhiều phương pháp khác, đây là phương pháp đánh giá stress oxy hoá duy nhất đã được ứng dụng nghiên cứu nhiều trên lâm sàng để đưa ra các khuyến cáo áp dụng trên thực tiễn.

4.3. ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ CỦA LIỆU PHÁP CHỐNG OXY HOÁ LÊN MỘT SỐ CHỈ SỐ CHẤT LƯỢNG TINH TRÙNG

4.3.1. Hiệu quả can thiệp dựa trên tinh dịch đồ

Theo **bảng 3.30, 3.34, 3.40**, chúng tôi nhận thấy kết quả cải thiện đáng kể trước và sau điều trị. Kết quả mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động, và tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường sau điều trị có sự cải thiện. Tỷ lệ tinh trùng sống có sự giảm từ 83,07% còn 81,07%, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê và giá trị sau điều trị vẫn trong giới hạn bình thường.

So sánh với các nghiên cứu trước đây, liệu pháp chống oxy hoá tỏ ra khá hiệu quả trong việc cải thiện chất lượng tinh trùng đánh giá bằng các chỉ số trên tinh dịch đồ. Tỷ lệ tinh trùng không di động giảm rõ rệt sau khi được bổ sung phác đồ chống oxy hoá trong 2 tháng [160]. Một báo cáo khác của Ross và cộng sự đã phân tích 17 thử nghiệm ngẫu nhiên và nhận thấy các thông số tinh dịch sau liệu pháp chống oxy hóa đã được báo cáo là cải thiện rõ rệt trong 14 trong số 17 thử nghiệm [129]. Trong đó, tỷ lệ tinh trùng di động là chỉ số có sự cải thiện rõ rệt nhất khi hiện diện trên 9/17 các thử nghiệm khác nhau.

Tác giả Rochdi đã chỉ định phác đồ chất chống oxy hoá trên bệnh nhân có tinh trùng OAT 3 tháng và 6 tháng, và đã nhận được nhiều cải thiện về chỉ số tinh dịch đồ sau điều trị. Mật độ tinh trùng cải thiện rõ rệt sau điều trị (trước điều trị $8,67 \pm 1,41$, sau điều trị 3 tháng $12,17 \pm 1,91$, sau điều trị 6 tháng $19,01 \pm 0,86$, $p < 0,01$); các chỉ số khác như tỷ lệ di động và tổng số tinh trùng cũng ghi nhận sự cải thiện với $p < 0,01$ [126]. Một phân tích có giá trị cao gần đây của nhóm tác giả Agarwal trên 1307 công bố và 45 phân tích RCTs ở 4332 bệnh nhân đã đưa ra một số nhận định như sau: tỷ

lệ mang thai cao hơn đáng kể ở những bệnh nhân được điều trị bằng chất chống oxy hoá so với nhóm đối chứng được điều trị bằng giả dược hoặc không được điều trị [12]. Mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới, tổng số lượng tinh trùng di động và hình thái tinh trùng bình thường tăng lên một cách rõ rệt. Những kết quả này không thay đổi sau khi loại trừ các nghiên cứu được thực hiện sau phẫu thuật giãn tĩnh mạch tinh. Phân tích này đã nâng cấp mức độ bằng chứng ủng hộ khuyến nghị sử dụng chất chống oxy hoá trong điều trị vô sinh nam để cải thiện tỷ lệ mang thai tự nhiên và các thông số tinh dịch đồ [12].

Xét về các cơ chế đơn lẻ, nhiều nghiên cứu đã chỉ định các nhóm chất chống oxy hoá khác nhau để đánh giá tác động trên chất lượng tinh trùng. Một nghiên cứu đối chứng ngẫu nhiên được thực hiện nhằm đánh giá tác dụng của vitamin E lên các trường hợp vô sinh không rõ nguyên nhân [51] và nhận thấy tỷ lệ có thai và thai diễn tiến cao hơn ở nhóm có sử dụng vitamin E, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Ở nam giới, melatonin xuất hiện ở tinh dịch và ở các thụ thể màng tế bào của tinh trùng. Các tác động trong ống nghiệm của melatonin trên tinh trùng như độ di động, mật độ đã được khảo sát [113]. Nghiên cứu gần đây năm 2019 đã nhận thấy sự cải thiện rõ rệt mật độ tinh trùng, hình thái tinh trùng bình thường, tỷ lệ tinh trùng di động, sau khi điều trị với phác đồ đa vi chất gồm 500 mg L-Carnitine kết hợp với một số vi chất khác [41]. Các kết quả có sự đồng thuận cao về hiệu quả điều trị bằng các phác đồ chống oxy hoá thể hiện trên các chỉ số tinh dịch đồ. Tuy nhiên, các nghiên cứu cho thấy chưa có sự đồng nhất về phác đồ điều trị, liều lượng và thời gian sử dụng, cũng như thời điểm đánh giá sau điều trị để đánh giá hiệu quả điều trị của phác đồ.

Các phân tích Cochrane gần đây đã tổng hợp các dữ liệu liên quan đến hiệu quả điều trị bằng các chất chống oxy hoá lên chất lượng tinh trùng và kết cục có thai ở bệnh nhân. Dữ liệu cho thấy mặc dù thiết kế và phương pháp điều trị của các nghiên cứu có sự khác nhau lớn, nhưng nhìn chung phác đồ chống oxy hoá cho thấy hiệu quả nhất định trong việc cải thiện chất lượng tinh trùng thể hiện ở các chỉ số tinh dịch đồ, đặc biệt chỉ số mật độ tinh trùng, tỷ lệ tinh trùng di động và tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường là những chỉ số có sự thay đổi khá rõ rệt [57], [148], [147].

4.3.2. Hiệu quả can thiệp dựa trên đứt gãy DNA tinh trùng

Kết quả phân mảnh DNA tinh trùng trong nghiên cứu của chúng tôi xác định bởi phương pháp phân tán chất nhuộm sắc và có sự cải thiện đáng kể sau khi điều trị (**Bảng 3.31, bảng 3.35, bảng 3.38, bảng 3.42**). Chỉ số DFI trung bình giảm rõ rệt sau khi điều trị ($p < 0,001$). Nhìn chung, bệnh nhân được điều trị bằng phác đồ chống oxy hoá sau 3 tháng đã được ghi nhận sự cải thiện về độ bền vững DNA tinh trùng rõ rệt, sự cải thiện này được ghi nhận ở tất cả các phân nhóm nghiên cứu khác nhau.

Tunc và cộng sự đã chỉ định Menevit (Vitamin 100 mg, axit folic 500 µg, Selenium 26 µg, kẽm 25 mg, Vitamin E 400 IU, Lycopene 6 mg, Dầu tỏi 333 µg) trong 3 tháng. Kết quả nhận thấy rằng nam giới tăng độ đứt gãy DNA được điều trị chống oxy hoá trước khi IVF-ICSI sẽ giúp tăng kết quả có thai [157]. Tổng quan nghiên cứu Cochrane được thực hiện năm 2019 trên 48 nghiên cứu RCTs với tổng số 4179 bệnh nhân vô sinh nam được so sánh các chỉ số về tỷ lệ có thai, sảy thai, một số chỉ số tinh dịch đồ và đứt gãy DNA tinh trùng [148].

Một phân tích tổng hợp khác năm 2022 dựa trên 9 nghiên cứu có thiết kế nghiên cứu khá đồng nhất với nhau đã đánh giá hiệu quả điều trị bằng phác đồ chống oxy hoá đa vi chất thể hiện ở kết quả đứt gãy DNA tinh trùng và một số các chỉ số tinh dịch đồ khác [108]. Trong số chín nghiên cứu này cho thấy tỷ lệ SDF giảm tích cực sau khi bổ sung chất chống oxy hóa. Bốn nghiên cứu cho thấy SDF giảm đáng kể về mặt thống kê. Trong nghiên cứu của Martinez-Soto và cộng sự, tác giả đã quan sát thấy mức giảm SDF% từ $22,0\% \pm 2,1\%$ xuống $9,3\% \pm 1,3\%$ ($P < 0,01$) sau khi dùng 1500 mg DHA hàng ngày [98]. Sự phân mảnh DNA tinh trùng cũng giảm từ 25,8% xuống 18,0% sau khi điều trị bằng chất chống oxy hóa bằng đường uống ($P < 0,001$) bao gồm vitamin tổng hợp, coenzym Q10, omega-3 trong một nghiên cứu của Humaidan và cộng sự [78]. Sau khi điều trị bằng NAC, bệnh nhân có biểu hiện SDF thấp hơn (15,14%) so với trước đó là 19,34% [81].

Trong nghiên cứu của Stenqvist và cộng sự, các thành phần chống oxy hóa sau đây đã được sử dụng: L-carnitine 750 mg, coenzym Q10 10 mg và axit folic 100 µg, bệnh nhân sau điều trị ghi nhận sự sụt giảm SDF% (trước điều trị là 34% so với sau điều trị là 30%) ($P > 0,01$) trong vòng 6 tháng. Micic và cộng sự tương tự nhận thấy

SDF giảm từ 38,5% (32,00-48,70%) còn 35,50% (25,50- 44,00%) ($P < 0,001$) sau khi dùng Proxeed Plus [99].

Một nghiên cứu tiến cứu, theo chiều dọc đa trung tâm đã kết luận rằng việc sử dụng myo-inositol, axit alpha-lipoic, axit folic, coenzym Q10, kẽm, selen và vitamin B2, B6 và B12 giúp giảm độ đứt gãy DNA tinh trùng ($28,3\% \pm 25,1$ và $16,3\% \pm 7,9\%$) ($P = 0,078$) [141]. Các dữ liệu từ phân tích tổng hợp này đều ủng hộ khả năng chất chống oxy hoá giúp cải thiện độ bền vững DNA tinh trùng.

Tuy nhiên, khi phân tích đường cong ROC để dự báo mức độ ORP trong dự báo khả năng đáp ứng với phác đồ chống oxy hoá trong quần thể nghiên cứu với kết quả chính là sự cải thiện giá trị DFI, chúng tôi chưa tìm thấy mức độ ORP có ý nghĩa. Điều này có thể liên quan đến việc khả năng đáp ứng với điều trị cần sự kết hợp nhiều yếu tố khác để có thể tiên lượng hơn là đơn thuần giá trị ORP. Sự đứt gãy DNA tinh trùng là một hệ quả không chỉ do tình trạng stress oxy hoá mà còn là sự phối hợp của nhiều yếu tố tác động: các bệnh lý nền, bệnh lý tại chỗ, các yếu tố lối sống...

Theo nhóm tác giả Romano và cộng sự, việc hạn chế tạo ra quá nhiều ROS trong tinh dịch cũng rất quan trọng bên cạnh việc cải thiện khả năng phòng vệ chống oxy hóa của bệnh nhân [127]. Việc bổ sung chất chống oxy hóa đã được nghiên cứu trong điều trị vô sinh nam, nhưng các khuyến cáo đưa ra từ chứng cứ hiện tại đã bị vô hiệu do thiếu dữ liệu về chất lượng thống kê của các nghiên cứu và quy mô của quần thể nghiên cứu. Bên cạnh đó, do có nhiều chất chống oxy hóa trên thị trường và sự pha trộn thường xuyên của các chất chống oxy hoá khác nhau trong cùng một viên thuốc, nên rất khó để hiểu được vai trò của từng thành phần riêng lẻ trong việc cải thiện DFI trước và sau khi điều trị [127].

4.3.3. Hiệu quả can thiệp dựa trên chỉ số cân bằng thể oxy hoá - khử tinh dịch

Nhìn chung, trong nghiên cứu của chúng tôi, sự cân bằng thể oxy hoá - khử có sự sụt giảm sau điều trị (**Bảng 3.31, bảng 3.35, bảng 3.38, bảng 3.42**). Tỷ lệ mắc stress oxy hoá trong tinh dịch cũng có sự sụt giảm đáng kể, sự thay đổi này có ý nghĩa về thống kê ($p=0,009$). Ở các phân nhóm nghiên cứu khác nhau, sự thay đổi rõ rệt về cân bằng thể oxy hoá - khử đều được ghi nhận ở các phân nhóm điều trị.

Khi so sánh với các dữ liệu hiện có về hiệu quả chống oxy hoá bằng các chất chống oxy hoá đường uống, chúng tôi nhận thấy kết quả vẫn còn nhiều hạn chế vì các nghiên cứu có cỡ mẫu chưa lớn, thiết kế nghiên cứu khác nhau, các phác đồ điều trị khác nhau, và các phương pháp đánh giá tình trạng stress oxy hoá cũng khác nhau giữa các nghiên cứu. Một số nghiên cứu đánh giá trên mô hình động vật bước đầu nhận thấy những ưu điểm của phác đồ chống oxy hoá thể hiện ở sự thay đổi của một số chỉ số stress oxy hoá. Một nghiên cứu đánh giá chế độ ăn giàu các chất chống oxy hoá trên gà tây đã khảo sát tình trạng oxy hóa huyết tương được đánh giá bằng cách đo khả năng khử sắt của huyết tương (FRAP), hoạt tính superoxide effutase (SOD) và glutathione peroxidase (GSH-Px). Quá trình peroxid hóa lipid được đo bằng các chất phản ứng với axit thiobarbituric (TBARS) [159]. Nhóm tác giả nhận thấy chế độ ăn giàu chất chống oxy hoá gây tăng GSH-Px ($p = 0,002$) và tương tự tăng hoạt tính của SOD ($p = 0,084$).

Một nghiên cứu khác trên chuột đã bổ sung thêm vitamin A, vitamin E, kẽm, selenium trong 7 tuần và đánh giá tại hệ thống cơ, gan và tim về tình trạng stress oxy hoá [101]. Việc bổ sung chất chống oxy hóa làm tăng hàm lượng glutathione trong gan (giảm sự oxy hoá glutathione), giảm tổn thương oxy hóa ở gan và lá lách (được đo bằng hàm lượng γ -keto-aldehyde) và giảm các chất phản ứng với axit thiobarbituric ở tim.

Đối với các nghiên cứu ở người, bởi vì tính phức tạp khi phân tích tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch, phần lớn các nghiên cứu đều thực hiện dưới dạng in vitro. Một nghiên cứu từ tác giả Chi và cộng sự đánh giá hiệu quả của việc bổ sung ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) và catalase vào môi trường chuẩn bị tinh trùng và sau đó khảo sát tình trạng stress oxy hoá tinh dịch [50]. Nhóm tác giả nhận thấy nồng độ ROS thấp hơn đáng kể trong tinh trùng sau khi được rửa bằng chất chống oxy hóa (196~312 rlu) so với tinh trùng đối chứng (604 rlu, $P < 0,05$). Việc bổ sung 10 μ M EDTA vào môi trường chuẩn bị tinh trùng đã cải thiện đáng kể khả năng vận động của tinh trùng so với nhóm đối chứng [50].

Ciftci và cộng sự đã thực hiện nghiên cứu trên 120 bệnh nhân vô sinh nam và chỉ định dùng NAC (uống 600 mg/ngày) trong 3 tháng; nhóm đối chứng (60 nam) nhận được giả dược. Tình trạng oxy hóa được xác định bằng cách đo tổng khả năng chống oxy hóa, tổng lượng peroxide và chỉ số stress oxy hóa trong các mẫu huyết tương [52]. NAC có tác dụng cải thiện đáng kể về thể tích, khả năng vận động và độ nhớt của tinh dịch. Sau khi điều trị bằng NAC, tổng khả năng chống oxy hóa trong huyết thanh cao hơn và tổng chỉ số peroxide và stress oxy hóa ở nhóm được điều trị bằng NAC thấp hơn so với nhóm đối chứng. Những tác dụng có lợi này là do giảm các loại oxy phản ứng trong huyết thanh và giảm độ nhớt của tinh dịch.

Một nghiên cứu tương tự với nghiên cứu của chúng tôi sử dụng hệ thống MioXSYS nhằm đánh giá tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch và đánh giá hiệu quả phác đồ chống oxy hoá [27]. Nghiên cứu này đo lường hiệu quả của axit ascorbic (AA) chống lại stress oxy hóa gây ra do tác động kích thích từ nhiệt độ cao và tác động của hydro peroxide. Sử dụng AA với hàm lượng 600 $\mu\text{mol/L}$ có mức giảm ORP rõ rệt hơn so với 400 $\mu\text{mol/L}$ AA ($p = 0,001$). Sự cải thiện đáng kể về khả năng di chuyển của tinh trùng từ 4,89% đến 14,02% được quan sát thấy sau khi bổ sung H_2O_2 ($p < 0,001$). Việc bổ sung axit ascorbic có thể có lợi cho việc chuẩn bị tinh dịch trong IUI, IVF và ICSI [27].

Chúng tôi chưa tìm thấy nhiều nghiên cứu đánh giá hiệu quả điều trị chống oxy hoá thông qua chỉ số ORP đánh giá cân bằng thể oxy hoá-khử trong tinh trùng. Nghiên cứu này của chúng tôi là một trong những nghiên cứu đầu tiên thực hiện khảo sát đồng thời tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng và chỉ số cân bằng thể oxy hoá - khử trong tinh dịch nhằm kiểm định hiệu quả điều trị bằng phác đồ chống oxy hoá đa vi chất.

4.3.4. Hiệu quả can thiệp dựa trên đặc điểm chức năng tình dục

Khi phân tích kết quả về thang điểm IIEF-15 đánh giá chức năng tình dục và rối loạn cương trên bệnh nhân, bệnh nhân sau điều trị có sự cải thiện về chức năng tình dục thể hiện ở thang điểm IIEF-15 (**Bảng 3.29, bảng 3.33, bảng 3.36, bảng 3.40**). Theo tác giả Zhang và cộng sự, liệu pháp chống oxy hóa có tác động kịp thời và hiệu

quả hơn đối với những thay đổi về phân tử và siêu cấu trúc của mô cương dương so với những thay đổi bệnh lý rõ rệt như xơ hóa và suy giảm chức năng. Dữ liệu của nhóm nghiên cứu cho thấy rằng việc tiêu thụ lâu dài chất chống oxy hóa trong chế độ ăn uống có thể loại bỏ các sản phẩm oxy hóa và cải thiện chức năng cương dương. Liệu pháp đích ức chế và loại bỏ trực tiếp các gốc tự do giúp điều hoà hoạt động ty thể cơ bản có thể dẫn đến các chiến lược mới hơn giúp chống lại rối loạn chức năng cơ trơn và xơ hóa mô cương dương [172].

Một nghiên cứu khá thú vị khác đã đánh giá rối loạn tình dục nữ sau khi bổ sung vitamin E và nhân sâm [67]. Trong thử nghiệm lâm sàng đối chứng giả dược, mù đôi, ngẫu nhiên, kéo dài 6 tuần, những người tham gia bị rối loạn chức năng tình dục dựa trên bảng câu hỏi về chỉ số chức năng tình dục nữ (FSFI), được phân nhóm ngẫu nhiên để nhận chất bổ sung (100 IU vitamin E, 67 mg nhân sâm Hàn Quốc và 40 mg nhân sâm Siberia) hoặc giả dược hàng ngày. Những thay đổi về tổng điểm FSFI và các phân nhóm của thang điểm là rõ rệt sau điều trị bằng nhóm chống oxy hoá. Tuy nhiên, chất bổ sung chỉ cải thiện có ý nghĩa thống kê ở đặc điểm ham muốn tình dục và sự thỏa mãn tình dục. Nghiên cứu này đã không thể tìm thấy lợi ích bổ sung của việc bổ sung vitamin E và nhân sâm so với giả dược trong việc tăng cường chức năng tình dục nói chung, nhưng phác đồ này có tác dụng tốt hơn trong việc tăng cường ham muốn và sự thỏa mãn tình dục [67].

Chúng tôi nhận thấy kết quả của các nghiên cứu đánh giá hiệu quả điều trị bằng phác đồ chống oxy hoá lên cải thiện chức năng tình dục hiện còn rất hạn chế về số lượng nghiên cứu, thiết kế nghiên cứu, và sự đồng nhất trong các phác đồ điều trị. Mặc dù các kết quả ban đầu cho thấy sự cải thiện khá tốt về các chỉ số đánh giá chức năng tình dục ở bệnh nhân, tuy nhiên cần phải loại trừ các yếu tố chủ quan của bệnh nhân bởi vì gần như các nghiên cứu cho thấy cải thiện khá rõ rệt về các yếu tố liên quan đến ham muốn, cũng như sự thỏa mãn đời sống tình dục.

4.3.5. Các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị

Trong nghiên cứu của chúng tôi, khi đánh giá hiệu quả của phác đồ chống oxy hoá giúp giảm tình trạng đứt gãy DNA tinh trùng, chúng tôi chưa tìm thấy các yếu tố

liên quan đến hiệu quả điều trị. Riêng nhóm bệnh nhân có cải thiện tỷ lệ tinh trùng di động và mật độ tinh trùng, thì sự cải thiện về DFI sau điều trị là rõ rệt hơn (**Bảng 3.45**). Liên quan đến các yếu tố có thể ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị của phác đồ chống oxy hoá bằng thuốc, một số nghiên cứu đã xác định một số yếu tố như độ tuổi, cân nặng, liều dùng thuốc, các nhóm vi chất phối hợp trong phác đồ... Thử nghiệm ngẫu nhiên, mù đôi, có đối chứng giả dược đã nghiên cứu tác động của việc bổ sung Carnitine và các vi chất dinh dưỡng khác trong 6 tháng lên chất lượng tinh trùng ở 104 đối tượng mắc bệnh thiếu tinh và/hoặc có tinh trùng bất động, và có hoặc không có giãn tĩnh mạch tinh [46]. Phân tích tinh dịch được thực hiện khi bắt đầu và kết thúc điều trị. Ở 94 bệnh nhân hoàn thành nghiên cứu, tất cả các thông số tinh trùng đều tăng ở những bệnh nhân được bổ sung so với nhóm dùng giả dược. Sự khác biệt đáng kể ($p = 0,0272$) về hiệu quả bổ sung đã được quan sát đối với khả năng vận động của tinh trùng ở bệnh nhân bị giãn tĩnh mạch tinh và $BMI < 25$. Trong cùng một nhóm, khả năng vận động tiến tới cũng vượt trội hơn đáng kể ($p = 0,0159$). Nghiên cứu này cho thấy việc bổ sung có hiệu quả hơn ở những đối tượng bị giãn tĩnh mạch tinh dưới 35 tuổi có $BMI < 25$.

Liều lượng sử dụng và sự phối hợp các loại chất chống oxy hoá là điều rất quan trọng. Liều điều trị phải đảm bảo hiệu quả điều trị nhưng không được quá mức vì có thể gây nên các tác động nghịch lý của chống oxy hoá. Nghịch lý chống oxy hóa là hiện tượng tác dụng phụ xảy ra khi trạng thái cân bằng của hệ thống oxy hóa khử bị tổn hại theo hướng chuyển sang trạng thái khử khi có quá nhiều chất chống oxy hóa, gây ra stress khử. Sự thiếu hụt về các khuyến cáo, các dữ liệu có độ tin cậy cao về liệu pháp chống oxy hóa và trạng thái oxy hóa khử lý tưởng có thể khiến quá trình điều trị thất bại nếu liều lượng quá ít hoặc quá nhiều [156]. Biết liều lượng thích hợp liên quan đến khả năng sinh sản của nam giới của từng chất chống oxy hóa có thể giúp chúng ta bổ sung lượng thích hợp cần thiết để cải thiện các thông số tinh dịch. Ở nam giới, việc sử dụng quá nhiều chất chống oxy hóa có thể gây ra tác dụng phụ ảnh hưởng đến tính toàn vẹn của nhân tinh trùng, khiến tinh trùng mất khả năng chống lại những tác nhân có hại từ bên ngoài. Trạng thái oxy hóa khử có thể ảnh hưởng đến sự trưởng thành của mào tinh hoàn, ngăn chặn sự hình thành cầu nối disulfide giữa

các protamine và do đó làm cho nhân tinh trùng kém đề kháng hơn [49]. Ví dụ, hàm lượng selen cao, một chất chống oxy hóa qua nhiều thử nghiệm lâm sàng đã chứng minh tác dụng có lợi của nó đối với các thông số chất lượng tinh trùng, có thể gây bất lợi nếu sử dụng quá mức. Selenium trên ≥ 80 ng/mL trong huyết tương tinh dịch, cao hơn phạm vi tối ưu là 40-70 ng/mL, có liên quan đến chứng suy nhược tinh trùng và tỷ lệ sảy thai tăng cao [74]. Hơn nữa, nhiều chất chống oxy hóa phụ thuộc vào hoạt động hiệp đồng của nhiều hợp chất. Nếu thiếu một thành phần quan trọng, những thành phần khác có thể tỏ ra độc hại, khiến tác dụng chống oxy hóa mong muốn không còn hiệu quả [74]. Điều này có thể giải thích tại sao các thử nghiệm chống oxy hóa đôi khi cho thấy những tác dụng có lợi cho sức khỏe trong khi những thử nghiệm khác cho thấy không có tác dụng gì hoặc thậm chí có tác dụng có hại trong một số trường hợp nhất định [44].

Profortil đã được sử dụng trong nghiên cứu nhằm đánh giá tác động của các chất chống oxy hóa lên chất lượng tinh trùng. Profortil đã được chấp thuận của Bộ Y tế là thuốc hỗ trợ bảo vệ sức khỏe. Bên cạnh đó, một số nghiên cứu trên thế giới đã sử dụng Profortil nhằm hỗ trợ cải thiện chất lượng tinh trùng [32], [140]. Các kết quả cho thấy những tác động có lợi của Profortil trong việc cải thiện một số chỉ số chất lượng tinh trùng. Vì vậy, sử dụng Profortil sẽ đảm bảo được vấn đề y đức trong thiết kế nghiên cứu, và có được nguồn dữ liệu để so sánh và đối chiếu kết quả nghiên cứu. Tuy nhiên, cho đến nay, chưa thể xác định được phác đồ tối ưu do sự đa dạng trong việc phối hợp các nhóm chất chống oxy hóa và liều lượng cụ thể.

Một khía cạnh cần lưu ý nữa là việc bổ sung các chất chống oxy hóa còn phụ thuộc vào hình thức bổ sung nào: từ chế độ ăn uống hay sử dụng các thuốc chống oxy hóa tổng hợp đường uống. Nhiều tác giả đã đặt câu hỏi tại sao một chế độ ăn uống lành mạnh lại được ưu tiên hơn việc bổ sung chất chống oxy hóa về mặt cải thiện chất lượng tinh trùng và khả năng sinh sản? Trong khi đó, nhiều ý kiến lại cho rằng thực phẩm chức năng là sự thay thế cho chế độ ăn uống lành mạnh nhưng thực tế không phải vậy. Khả năng tiếp cận sinh học và khả dụng sinh học của mỗi chất chống oxy hóa phụ thuộc vào nhiều yếu tố. Quá trình hấp thụ của thực phẩm giàu chất chống

oxy hóa, như trái cây và rau quả, rất phức tạp và chưa được hiểu đầy đủ, khiến việc dự đoán khả dụng sinh học trở nên khó khăn [116].

Mặc dù việc sử dụng thận trọng các chất bổ sung có thể cải thiện các thông số tinh trùng nhưng việc sử dụng không có giám sát có thể gây hại cho bệnh nhân. Một đánh giá có hệ thống năm 2020 đã so sánh các RCT sử dụng chất bổ sung chống oxy hóa để cải thiện khả năng sinh sản của nam giới và nhận thấy sự bổ sung thường kết hợp quá mức một số chất không cần thiết [65]. Ngoài ra, phân tích Cochrane gần đây cũng nhận thấy một số tác dụng phụ liên quan đường tiêu hóa khi sử dụng các nhóm thuốc chống oxy hóa trong thời gian quá dài [57].

4.4. MỘT SỐ ƯU ĐIỂM VÀ HẠN CHẾ CỦA NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam sử dụng phương pháp đo cân bằng thể oxy hóa - khử tinh dịch nhằm xác định tình trạng stress oxy hóa trong tinh dịch và đồng thời đánh giá bước đầu hiệu quả của phác đồ chất chống oxy hóa nhằm cải thiện chất lượng tinh trùng và chức năng tình dục của bệnh nhân. Phương pháp đo cân bằng thể oxy hóa - khử là phương pháp duy nhất có nhiều ưu điểm vượt trội như: tính đơn giản, chi phí thấp, phân tích trong thời gian ngắn, chỉ cần một lượng tinh dịch rất nhỏ, được ứng dụng mạnh mẽ trong lâm sàng, và là phương pháp được đánh giá rộng rãi trên thế giới trong nhiều nghiên cứu. Kết quả ban đầu trong nghiên cứu này sẽ giúp cung cấp những dữ liệu đầu tiên trong quần thể người Việt Nam về tình trạng stress oxy hóa tinh dịch nhằm làm rõ các vai trò đối với chức năng sinh sản ở nam giới.

Nghiên cứu của chúng tôi còn tồn tại một số hạn chế nhất định như cỡ mẫu các trường hợp đồng ý tham gia vào nghiên cứu ở mục tiêu 2 còn khá hạn chế. Mặc dù thoả mãn với cỡ mẫu tối thiểu nhưng cần thiết một cỡ mẫu lớn hơn để nghiên cứu có độ tin cậy cao hơn. Chúng tôi đã không sử dụng nhiều phác đồ điều trị nhằm đánh giá hiệu quả của các phác đồ chống oxy hóa khác nhau, với liều lượng khác nhau và các nhóm chất chống oxy hóa khác nhau. Đây là điều quan trọng, bởi vì liều điều trị và sự phối hợp các nhóm chất oxy hóa cần đảm bảo nguyên tắc đủ hiệu quả chống oxy hóa nhưng không được quá mức vì các tác dụng ngược khử hoá có thể gây bất lợi đối với chất lượng tinh trùng. Thiết kế nghiên cứu mù đôi có nhóm chứng điều trị

giả được có thể tăng tính khoa học trong nghiên cứu do giúp tránh được một số yếu tố nhiễu, tuy nhiên điều này có thể sẽ ảnh hưởng đến vấn đề y đức trong điều trị. Đó là một khó khăn trong quá trình thiết kế nghiên cứu của chúng tôi. Ngoài ra, kết cục đánh giá hiện bao gồm tinh dịch đồ, độ đứt gãy DNA tinh trùng và cân bằng thể oxy hoá - khử. Chúng tôi không thực hiện được các thăm dò khác về tình trạng stress oxy hoá để có dữ liệu so sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới. Hơn nữa, mục tiêu của quá trình điều trị vô sinh là khả năng mang thai và sinh con khoẻ mạnh. Chúng tôi chưa có được các dữ liệu quan trọng này để xác định hiệu quả của phác đồ chống oxy hoá.

Mặc dù trong quá trình thực hiện nghiên cứu, chúng tôi đã cố gắng kiểm soát các yếu tố nhiễu có thể ảnh hưởng đến kết quả nghiên cứu như việc cải thiện các yếu tố lối sống thể hiện ở giảm cân, ngưng hút thuốc lá, rượu bia, không điều trị và sử dụng các loại thuốc khác... Tuy vậy, một số yếu tố rất khó để tiến hành loại trừ như sự phơi nhiễm với các chất độc hại, nhiệt độ vùng bìu cao, phơi nhiễm với sóng bức xạ, chế độ ăn uống lành mạnh... Do đó, nghiên cứu vẫn còn tồn tại một số điểm có thể là yếu tố nhiễu tiềm tàng cho kết quả nghiên cứu.

KẾT LUẬN

Là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam sử dụng chỉ số đo cân bằng thể oxy hoá - khử để khảo sát tình trạng stress oxy hoá tinh dịch, qua kết quả phân tích trên 351 trường hợp nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh, chúng tôi có một số kết luận như sau:

Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu bao gồm: độ tuổi trung bình là $34,72 \pm 5,57$ tuổi; bệnh nhân có tiền sử mắc quai bị là 19,1%; chỉ số BMI của nhóm nghiên cứu là $23,34 \pm 2,71$ kg/m² xếp vào mức thừa cân. Thang điểm IIEF xác định 26,8% các trường hợp có rối loạn chức năng tình dục; tỷ lệ nam giới trong nghiên cứu được chẩn đoán mắc hội chứng chuyển hoá là 26,8%.

1. Khảo sát ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng dựa vào kết quả tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng ở các trường hợp vô sinh.

- 60,7% bệnh nhân có stress oxy hoá trong tinh dịch. Giá trị của độ cân bằng thể oxy hoá - khử với trung vị là 1,08 mV/triệu tinh trùng/mL.

- Stress oxy hoá tinh dịch tăng lên ở người mắc giãn tĩnh mạch tinh.

- Mật độ tinh trùng thấp có tỷ lệ stress oxy hoá cao hơn so với nhóm có mật độ tinh trùng bình thường (80,6% so với 28,3%, $p < 0,001$). Giá trị ORP có tác động bất lợi lên kết quả tinh trùng thể hiện ở: sự tăng lên tỷ lệ tinh trùng bất thường đầu; tỷ lệ tinh trùng bất thường cổ đuôi; và suy giảm mật độ tinh trùng; tỷ lệ tinh trùng di động tiến tới chậm; tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường.

- Tổng số tinh trùng có quầng halo trung bình ở nhóm không stress oxy hoá cao hơn so với nhóm có stress oxy hoá. ORP có tương quan nghịch với số lượng tinh trùng có quầng halo trung bình.

- Đường cong ROC đã xác định ngưỡng cắt của giá trị ORP nhằm phân biệt các trường hợp có bất thường về kết quả mật độ tinh trùng là 1,62 mV/triệu tinh trùng/mL với độ nhạy là 82,20% và độ đặc hiệu là 66,20%.

2. Đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hoá lên một số chỉ số chất lượng tinh trùng.

- Phác đồ chống oxy hoá trong 3 tháng có tác dụng cải thiện chất lượng tinh trùng thể hiện ở một số chỉ số tinh dịch đồ: tỷ lệ tinh trùng di động (14,93% so với 17,15% sau điều trị), tỷ lệ tinh trùng có hình thái bình thường (1,72% so với 2,05% sau điều trị), và mật độ tinh trùng (19,48 triệu tinh trùng/mL so với 23,63 triệu tinh trùng/mL sau điều trị). Nhóm bệnh nhân bất thường tinh dịch đồ có sự cải thiện tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường, tỷ lệ tinh trùng di động. Nhóm có stress oxy hóa trong tinh dịch có sự cải thiện mật độ tinh trùng. Nhóm phối hợp nhiều bất thường các chỉ số chất lượng tinh trùng có sự cải thiện mật độ tinh trùng.

- Phác đồ chống oxy hoá giúp cải thiện rõ rệt sự bền vững DNA tinh trùng thể hiện ở làm tăng số lượng tinh trùng quang halo lớn, làm giảm số lượng tinh trùng quang halo nhỏ, tinh trùng không có quang halo, tinh trùng thoái triển, và độ phân mảnh DNA tinh trùng. Đối với nhóm tinh dịch đồ bất thường, chỉ số phân mảnh DNA tinh trùng giảm từ $26,93 \pm 13,58\%$ trước điều trị còn $18,69 \pm 10,54\%$; $p < 0,001$.

- Phác đồ chống oxy hoá giúp giảm stress oxy hoá trong tinh dịch thể hiện ở sự giảm cân bằng thế oxy hoá - khử sau điều trị ($2,64 \pm 3,43$ mV/triệu tinh trùng/mL trước điều trị so với $1,47 \pm 1,56$ mV/triệu tinh trùng/mL sau điều trị; $p < 0,001$).

- Bệnh nhân sau điều trị có sự cải thiện về chức năng tình dục thể hiện ở thang điểm IIEF-15 (63,15 điểm so với 66,36 điểm sau điều trị). Các đặc điểm riêng lẻ trong thang điểm có sự cải thiện rõ rệt sau điều trị: tăng chỉ số đánh giá khả năng cương dương; tăng sự thoả mãn về giao hợp; tăng sự ham muốn về tình dục; tăng sự thoả mãn toàn diện về tình dục.

KIẾN NGHỊ

1. Có thể sử dụng phương pháp đo cân bằng thể oxy hoá - khử nhằm đánh giá tình trạng stress oxy hoá tinh dịch, đặc biệt ở các trường hợp nam giới vô sinh không rõ nguyên nhân. Có thể sử dụng phác đồ chất chống oxy hoá 3 tháng nhằm cải thiện chất lượng tinh trùng ở nam giới có bất thường kết quả tinh dịch đồ, tăng stress oxy hoá trong tinh dịch và tăng đứt gãy DNA tinh trùng.
2. Tiếp tục các nghiên cứu đánh giá tình trạng stress oxy hoá trong tinh dịch bằng phương pháp cân bằng thể oxy hoá - khử tinh dịch với cỡ mẫu lớn hơn, đa trung tâm từ đó có ngưỡng của chỉ số cân bằng thể oxy hoá - khử nhằm chẩn đoán tình trạng rối loạn chất lượng tinh trùng, và suy giảm chức năng sinh sản ở nam giới trong quần thể người Việt Nam, ngoài ra tập trung xác định rõ các yếu tố nguy cơ gây tăng stress oxy hoá trong tinh dịch, đặc biệt các yếu tố liên quan đến lối sống.
3. Tiếp tục các nghiên cứu có sự so sánh các phác đồ chất chống oxy hoá khác nhau trong cải thiện chất lượng tinh trùng để tối ưu hoá hiệu quả điều trị vô sinh, đặc biệt ở các trường hợp vô sinh nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

TIẾNG VIỆT

1. Mai Bá Tiến Dũng (2018), "Chất chống oxy hóa: Quan điểm trong điều trị vô sinh nam chất chống oxy hóa: Quan điểm trong điều trị vô sinh nam", *Tạp chí Y học sinh sản* 44 tr. 75-78.
2. Lê Thị Thuận Mỹ, Nguyễn Đắc Nguyên, Trần Thị Như Quỳnh và cộng sự (2021), "Nghiên cứu ảnh hưởng hội chứng chuyển hóa ở nam giới cặp vợ chồng vô sinh và kết quả thụ tinh nhân tạo", *Tạp chí Phụ sản*, 19(3), tr. 48-56.
3. Nguyễn Đắc Nguyên, Trần Thị Thu, Trần Đức Thịnh và cộng sự (2021), "Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và một số yếu tố liên quan đến cặp vợ chồng vô sinh nguyên phát", *Tạp chí Phụ sản*, 19(2), tr. 41-47.
4. Lê Minh Tâm (2022), "Nội tiết học sinh sản nam", *Các vấn đề trọng yếu trong Hỗ trợ sinh sản; Tập 1: Dành cho Bác sĩ lâm sàng*, tr. 40-44.
5. Lê Minh Tâm (2022), "Sự sinh tinh", *Các vấn đề trọng yếu trong Hỗ trợ sinh sản; Tập 1: Dành cho Bác sĩ lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr. 34-47.
6. Lê Minh Tâm (2022), "Sự sinh tinh: Sự biệt hoá về mặt chức năng", *Các vấn đề trọng yếu trong Hỗ trợ sinh sản; Tập 1: Dành cho Bác sĩ lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, tr. 35-37.
7. Lê Minh Tâm (2023), "Các thang điểm đánh giá chức năng tình dục nam giới", *Đại cương sức khoẻ tình dục*, Nhà xuất bản Y học, tr. 62-69.
8. Lê Minh Tâm (2023), "Rối loạn xuất tinh và cực khoái", *Đại cương sức khoẻ tình dục*, Nhà xuất bản Y học, tr. 189-202.
9. Lê Minh Tâm, Nguyễn Thị Kiều, Trần Thị Như Quỳnh và cộng sự (2019), "Hội chứng chuyển hóa ở nam giới các cặp vợ chồng vô sinh", *Tạp chí Phụ sản*, 16(4), tr. 115-123.
10. Lưu Thị Minh Tâm, Lê Hoàng Anh, Phạm Dương Toàn và cộng sự (2016), "Mối tương quan giữa nồng độ các tác nhân oxy hoá trong dịch nang và chất lượng phôi", *Tạp chí Phụ sản*, 14(2), tr. 81-85.

11. Huỳnh Thị Hồng Vinh, Lê Hoàng Anh, Hồ Mạnh Tường và cộng sự (2013), "đánh giá hàm lượng ROS (Reactive Oxygen Species) trong tinh dịch và dịch huyền phù có tinh trùng sau lọc rửa ở bệnh nhân hiếm muộn", *Tạp chí Phụ Sản*, 11, tr. 60-67.

TIẾNG ANH

12. Agarwal A., Cannarella R., Saleh R., et al (2023), "Impact of Antioxidant Therapy on Natural Pregnancy Outcomes and Semen Parameters in Infertile Men: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials", *World J Mens Health*, 41(1), pp. 14-48.
13. Agarwal A., Cho C. L., Esteves S. C., et al (2017), "Implication of sperm processing during assisted reproduction on sperm DNA integrity", *Transl Androl Urol*, 6(Suppl 4), pp. S583-s585.
14. Agarwal A., Deepinder F., Sharma R. K., et al (2008), "Effect of cell phone usage on semen analysis in men attending infertility clinic: an observational study", *Fertil Steril*, 89(1), pp. 124-128.
15. Agarwal A., Finelli R., Selvam M. K. P., et al (2021), "A Global Survey of Reproductive Specialists to Determine the Clinical Utility of Oxidative Stress Testing and Antioxidant Use in Male Infertility", *World J Mens Health*, 39(3), pp. 470-488.
16. Agarwal A., Majzoub A. (2017), "Laboratory tests for oxidative stress", *Indian J Urol*, 33(3), pp. 199-206.
17. Agarwal A., Maldonado Rosas I., Anagnostopoulou C., et al (2022), "Oxidative Stress and Assisted Reproduction: A Comprehensive Review of Its Pathophysiological Role and Strategies for Optimizing Embryo Culture Environment", *Antioxidants (Basel)*, 11(3), p. 477.
18. Agarwal A., Nandipati K. C., Sharma R. K., et al (2006), "Role of oxidative stress in the pathophysiological mechanism of erectile dysfunction", *J Androl*, 27(3), pp. 335-347.

19. Agarwal A., Panner Selvam M. K., Arafa M., et al (2019), "Multi-center evaluation of oxidation-reduction potential by the MiOXSYS in males with abnormal semen", *Asian J Androl*, 21(6), pp. 565-569.
20. Agarwal A., Parekh N., Panner Selvam M. K., et al (2019), "Male Oxidative Stress Infertility (MOSI): Proposed Terminology and Clinical Practice Guidelines for Management of Idiopathic Male Infertility", *World J Mens Health*, 37(3), pp. 296-312.
21. Agarwal A., Prabakaran S. A. (2005), "Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology", *Indian J Exp Biol*, 43(11), pp. 963-974.
22. Agarwal A., Roychoudhury S., Sharma R., et al (2017), "Diagnostic application of oxidation-reduction potential assay for measurement of oxidative stress: clinical utility in male factor infertility", *Reprod Biomed Online*, 34(1), pp. 48-57.
23. Agarwal A., Saleh R. A. and Bedaiwy M. A. (2003), "Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction", *Fertil Steril*, 79(4), pp. 829–843.
24. Agarwal A., Virk G., Ong C., et al (2014), "Effect of oxidative stress on male reproduction", *World J Mens Health*, 32(1), pp. 1-17.
25. Agarwal A. G. S., Sharma R (2016), *Reactive oxygen species (ROS) measurement. Andrological: a laboratory guide*, Springer International Publishing, New York.
26. Agarwal A. D., Damayanthi; Virk, Gurpriya; Du Plessis, Stefan S (2014), *Strategies to Ameliorate Oxidative Stress During Assisted Reproduction: Antioxidant Strategies*, SpringerBriefs in Reproductive Biology, Springer, New York.
27. Ahmad G., Agarwal A., Esteves S. C., et al (2017), "Ascorbic acid reduces redox potential in human spermatozoa subjected to heat-induced oxidative stress", *Andrologia*, 49(10), p. e12773.

28. Aitken R. J. (2020), "Impact of oxidative stress on male and female germ cells: implications for fertility", *Reproduction*, 159(4), pp. R189-R201.
29. Alahmar A. T. (2019), "The impact of two doses of coenzyme Q10 on semen parameters and antioxidant status in men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia", *Clin Exp Reprod Med*, 46(3), pp. 112-118.
30. Alahmar A. T. (2019), "Role of Oxidative Stress in Male Infertility: An Updated Review", *J Hum Reprod Sci*, 12(1), pp. 4-18.
31. Alahmar A. T., Singh R. and Palani A. (2022), "Sperm DNA Fragmentation in Reproductive Medicine: A Review", *J Hum Reprod Sci*, 15(3), pp. 206-218.
32. Alam Malik I., Durairajanayagam D., Henkel R., et al (2024), "Effects of Profortil® on Leptin-Induced Adverse Effects on Sperm Parameters in Sprague-Dawley Rats", *Andrologia*, 2024(1), p. 6122804.
33. Ali A. F. M., Modawe G., Rida M. A., et al (2022), "Prevalence of Abnormal Semen Parameters among Male Patients Attending the Fertility Center in Khartoum, Sudan", *Journal of Medical and Life Science*, 4(1), pp. 1-8.
34. American Heart A., National Heart L., Blood I., et al (2005), "Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Executive summary", *Cardiol Rev*, 13(6), pp. 322-327.
35. Amevor F. K., Cui Z., Ning Z., et al (2022), "Dietary quercetin and vitamin E supplementation modulates the reproductive performance and antioxidant capacity of aged male breeder chickens", *Poult Sci*, 101(6), p. 101851.
36. Amor H., Jankowski P. M., Dahadhah F. W., et al (2022), "Impact of tobacco smoking in association with H2BFWT, PRM1 and PRM2 genes variants on male infertility", *Andrologia*, 54(11), p. e14611.
37. Arafa M., Agarwal A., Majzoub A., et al (2020), "Efficacy of Antioxidant Supplementation on Conventional and Advanced Sperm Function Tests in Patients with Idiopathic Male Infertility", *Antioxidants (Basel)*, 9(3), p. 219.

38. Bai S., Wan Y., Zong L., et al (2020), "Association of Alcohol Intake and Semen Parameters in Men With Primary and Secondary Infertility: A Cross-Sectional Study", *Front Physiol*, 11, p. 566625.
39. Baldi E., Gallagher M. T., Krasnyak S., et al (2022), "Extended semen examinations in the sixth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen: contributing to the understanding of the function of the male reproductive system", *Fertil Steril*, 117(2), pp. 252-257.
40. Barati E., Nikzad H. and Karimian M. (2020), "Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management", *Cell Mol Life Sci*, 77(1), pp. 93-113.
41. Barik G., Chaturvedula L. and Bobby Z. (2019), "Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Male Infertility: An Interventional Study", *J Hum Reprod Sci*, 12(3), pp. 204-209.
42. Barradas V., Pereira Antoniassi M., Intasqui P., et al (2021), "Evaluation of oxidative stress in seminal plasma of adolescents with varicocele", *Reprod Fertil*, 2(2), pp. 141-150.
43. Belay R. E., Huang G. O., Shen J. K., et al (2016), "Diagnosis of clinical and subclinical varicocele: how has it evolved?", *Asian J Androl*, 18(2), pp. 182-185.
44. Biswas S. K. (2016), "Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox?", *Oxid Med Cell Longev*, 2016, p. 5698931.
45. Bucci R D. A. I., Parrillo S, Robbe D, Carluccio A (2023), "Evaluation of Testicular Volume and Correlation with Sperm Production in Martina Franca Donkeys: A Parameter to Consider When Approving Breeding Jacks", *Animals*, 13(23), p. 3619.
46. Busetto G. M., Del Giudice F., Virmani A., et al (2020), "Body mass index and age correlate with antioxidant supplementation effects on sperm quality: Post hoc analyses from a double-blind placebo-controlled trial", *Andrologia*, 52(3), p. e13523.

47. Cao N. T., Tran N. Q. T., Nguyen N. D., et al (2024), "Sexual dysfunction in men aged 40–60 years old in infertile couples", *Journal of Men's Health*, 20(6), pp. 124-128.
48. Carvajal-Serna M., Miguel-Jimenez S., Perez-Pe R., et al (2022), "Testicular Ultrasound Analysis as a Predictive Tool of Ram Sperm Quality", *Biology (Basel)*, 11(2), p. 261.
49. Chabory E., Damon C., Lenoir A., et al (2010), "Mammalian glutathione peroxidases control acquisition and maintenance of spermatozoa integrity", *J Anim Sci*, 88(4), pp. 1321-1331.
50. Chi H. J., Kim J. H., Ryu C. S., et al (2008), "Protective effect of antioxidant supplementation in sperm-preparation medium against oxidative stress in human spermatozoa", *Hum Reprod*, 23(5), pp. 1023-1028.
51. Cicek N., Eryilmaz O. G., Sarikaya E., et al (2012), "Vitamin E effect on controlled ovarian stimulation of unexplained infertile women", *J Assist Reprod Genet*, 29(4), pp. 325-328.
52. Ciftci H., Verit A., Savas M., et al (2009), "Effects of N-acetylcysteine on semen parameters and oxidative/antioxidant status", *Urology*, 74(1), pp. 73-76.
53. Condorelli R., Calogero A. E. and La Vignera S. (2013), "Relationship between Testicular Volume and Conventional or Nonconventional Sperm Parameters", *Int J Endocrinol*, 2013, p. 145792.
54. Crisol L., Matorras R., Aspichueta F., et al (2012), "Glutathione peroxidase activity in seminal plasma and its relationship to classical sperm parameters and in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection outcome", *Fertil Steril*, 97(4), pp. 852-857.
55. Dai J. B., Wang Z. X. and Qiao Z. D. (2015), "The hazardous effects of tobacco smoking on male fertility", *Asian J Androl*, 17(6), pp. 954-960.
56. De Iuliis G. N., Newey R. J., King B. V., et al (2009), "Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa in vitro", *PLoS One*, 4(7), p. e6446.

57. de Ligny W., Smits R. M., Mackenzie-Proctor R., et al (2022), "Antioxidants for male subfertility", *Cochrane Database Syst Rev*, 5(5), p. CD007411.
58. Elbardisi H., Finelli R., Agarwal A., et al (2020), "Predictive value of oxidative stress testing in semen for sperm DNA fragmentation assessed by sperm chromatin dispersion test", *Andrology*, 8(3), pp. 610-617.
59. Esteves S. C., Zini A., Coward R. M., et al (2021), "Sperm DNA fragmentation testing: Summary evidence and clinical practice recommendations", *Andrologia*, 53(2), p. e13874.
60. Evenson D. P., Djira G., Kasperson K., et al (2020), "Relationships between the age of 25,445 men attending infertility clinics and sperm chromatin structure assay (SCSA®) defined sperm DNA and chromatin integrity", *Fertil Steril*, 114(2), pp. 311-320.
61. Fernandez J. L., Muriel L., Rivero M. T., et al (2003), "The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation", *J Androl*, 24(1), pp. 59-66.
62. Finelli R., Leisegang K., Kandil H., et al (2022), "Oxidative Stress: A Comprehensive Review of Biochemical, Molecular, and Genetic Aspects in the Pathogenesis and Management of Varicocele", *World J Mens Health*, 40(1), pp. 87-103.
63. Forbes M. K., Baillie A. J. and Schniering C. A. (2014), "Critical flaws in the Female Sexual Function Index and the international index of Erectile Function", *J Sex Res*, 51(5), pp. 485-491.
64. Garcia-Segura S., Ribas-Maynou J., Lara-Cerrillo S., et al (2020), "Relationship of Seminal Oxidation-Reduction Potential with Sperm DNA Integrity and pH in Idiopathic Infertile Patients", *Biology (Basel)*, 9(9), p. 262.
65. Garolla A., Petre G. C., Francini-Pesenti F., et al (2020), "Dietary Supplements for Male Infertility: A Critical Evaluation of Their Composition", *Nutrients*, 12(5), p. 1472.
66. Gaskins A. J., Colaci D. S., Mendiola J., et al (2012), "Dietary patterns and semen quality in young men", *Hum Reprod*, 27(10), pp. 2899-2907.

67. Ghamari K., Kashani L., Jafarinia M., et al (2020), "Vitamin E and ginseng supplementation to enhance female sexual function: a randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial", *Women Health*, 60(10), pp. 1164-1173.
68. Gharagozloo P., Gutierrez-Adan A., Champroux A., et al (2016), "A novel antioxidant formulation designed to treat male infertility associated with oxidative stress: promising preclinical evidence from animal models", *Hum Reprod*, 31(2), pp. 252-262.
69. Gill K., Machalowski T., Harasny P., et al (2023), "Low human sperm motility coexists with sperm nuclear DNA damage and oxidative stress in semen", *Andrology*, pp. 933-1185.
70. Gill K., Machalowski T., Harasny P., et al (2022), "Male Infertility Coexists with Decreased Sperm Genomic Integrity and Oxidative Stress in Semen Irrespective of Leukocytospermia", *Antioxidants (Basel)*, 11(10), p. 1987.
71. Greco E., Iacobelli M., Rienzi L., et al (2005), "Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment", *J Androl*, 26(3), pp. 349-353.
72. Håkonsen L. B., Thulstrup A. M., Aggerholm A. S., et al (2011), "Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men", *Reprod Health*, 8, p. 24.
73. Hammadeh M. E., Al Hasani S., Rosenbaum P., et al (2008), "Reactive oxygen species, total antioxidant concentration of seminal plasma and their effect on sperm parameters and outcome of IVF/ICSI patients", *Arch Gynecol Obstet*, 277(6), pp. 515-526.
74. Henkel R., Sandhu I. S. and Agarwal A. (2019), "The excessive use of antioxidant therapy: A possible cause of male infertility?", *Andrologia*, 51(1), p. e13162.
75. Ho C. L. T., Vaughan-Constable D. R., Ramsay J., et al (2022), "The relationship between genitourinary microorganisms and oxidative stress, sperm DNA fragmentation and semen parameters in infertile men", *Andrologia*, 54(2), p. e14322.

76. Homa S. T., Vassiliou A. M., Stone J., et al (2019), "A Comparison Between Two Assays for Measuring Seminal Oxidative Stress and their Relationship with Sperm DNA Fragmentation and Semen Parameters", *Genes (Basel)*, 10(3), p. 236.
77. Hosseinzadeh Colagar A., Karimi F. and Jorsaraei S. G. (2013), "Correlation of sperm parameters with semen lipid peroxidation and total antioxidants levels in astheno- and oligoastheno- teratospermic men", *Iran Red Crescent Med J*, 15(9), pp. 780-785.
78. Humaidan P., Haahr T., Povlsen B. B., et al (2022), "The combined effect of lifestyle intervention and antioxidant therapy on sperm DNA fragmentation and seminal oxidative stress in IVF patients: a pilot study", *Int Braz J Urol*, 48(1), pp. 131-156.
79. Inhorn M. C., Patrizio P. (2015), "Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century", *Hum Reprod Update*, 21(4), pp. 411-426.
80. Irina A. Lapik A. V. G., Kamilat M. Gapparova (2020), "Micronutrient status in obese patients: A narrative review", *Obesity Medicine*, 18, p. 100224.
81. Jannatifar R., Parivar K., Roodbari N. H., et al (2019), "Effects of N-acetyl-cysteine supplementation on sperm quality, chromatin integrity and level of oxidative stress in infertile men", *Reprod Biol Endocrinol*, 17(1), p. 24.
82. Jensen T. K., Swan S. H., Skakkebaek N. E., et al (2010), "Caffeine intake and semen quality in a population of 2,554 young Danish men", *Am J Epidemiol*, 171(8), pp. 883-891.
83. Jurasović J., Cvitković P., Pizent A., et al (2004), "Semen quality and reproductive endocrine function with regard to blood cadmium in Croatian male subjects", *Biometals*, 17(6), pp. 735-743.
84. Kasahara E., Sato E. F., Miyoshi M., et al (2002), "Role of oxidative stress in germ cell apoptosis induced by di(2-ethylhexyl)phthalate", *Biochem J*, 365(Pt 3), pp. 849-856.

85. Keszthelyi M., Gyarmathy V. A., Kaposi A., et al (2020), "The potential role of central obesity in male infertility: body mass index versus waist to hip ratio as they relate to selected semen parameters", *BMC Public Health*, 20(1), p. 307.
86. Kupis L., Dobronski P. A. and Radziszewski P. (2015), "Varicocele as a source of male infertility - current treatment techniques", *Cent European J Urol*, 68(3), pp. 365-370.
87. Le Minh Tam T. T. T. N., Nguyen Dac Nguyen, Nhu Quynh Thi Tran, Quoc Huy Vu Nguyen (2019), "Endocrine Tests and/or Testicular Volume Are Not Predictive of Successful Sperm Retrieval by Multiple Testicular Sperm Extraction in Non-Obstructive Azoospermia", *Fertility & Reproduction*, 2(4), pp. 160-167.
88. Le M. T., Nguyen D. N., Le D. D., et al (2020), "Impact of body mass index and metabolic syndrome on sperm DNA fragmentation in males from infertile couples: A cross-sectional study from Vietnam", *Metabol Open*, 7, p. 100054.
89. Le M. T., Nguyen D. N., Tam Nguyen T. T., et al (2020), "Should Scrotal Color Doppler Ultrasound Be Routinely Indicated in Fertility Evaluation of Non-Azoospermic Men?", *Curr Urol*, 14(4), pp. 211-218.
90. Le M. T., Nguyen T. A. T., Nguyen H. T. T., et al (2019), "Does sperm DNA fragmentation correlate with semen parameters?", *Reprod Med Biol*, 18(4), pp. 390-396.
91. Le M. T., Tran N. Q. T., Nguyen N. D., et al (2021), "The Prevalence and Components of Metabolic Syndrome in Men from Infertile Couples and Its Relation on Semen Analysis", *Diabetes Metab Syndr Obes*, 14, pp. 1453-1463.
92. Leisegang K., Dutta S. (2021), "Do lifestyle practices impede male fertility?", *Andrologia*, 53(1), p. e13595.
93. Lin H. T., Wu M. H., Wu W. L., et al (2022), "Incorporating sperm DNA fragmentation index with computer-assisted semen morphokinematic parameters as a better window to male fertility", *Chin J Physiol*, 65(3), pp. 143-150.

94. Liu K. S., Mao X. D., Pan F., et al (2021), "Effect and mechanisms of reproductive tract infection on oxidative stress parameters, sperm DNA fragmentation, and semen quality in infertile males", *Reprod Biol Endocrinol*, 19(1), p. 97.
95. Majzoub A., Arafa M., El Ansari W., et al (2020), "Correlation of oxidation reduction potential and total motile sperm count: its utility in the evaluation of male fertility potential", *Asian J Androl*, 22(3), pp. 317-322.
96. Majzoub A., Esteves S. C., Gosálvez J., et al (2016), "Specialized sperm function tests in varicocele and the future of andrology laboratory", *Asian J Androl*, 18(2), pp. 205-212.
97. Marchlewska K., Filipiak E., Walczak-Jedrzejowska R., et al (2016), "Sperm DNA Fragmentation Index and Hyaluronan Binding Ability in Men from Infertile Couples and Men with Testicular Germ Cell Tumor", *Biomed Res Int*, 2016, p. 7893961.
98. Martinez-Soto J. C., Domingo J. C., Cordobilla B., et al (2016), "Dietary supplementation with docosahexaenoic acid (DHA) improves seminal antioxidant status and decreases sperm DNA fragmentation", *Syst Biol Reprod Med*, 62(6), pp. 387-395.
99. Micic S., Lalic N., Djordjevic D., et al (2019), "Double-blind, randomised, placebo-controlled trial on the effect of L-carnitine and L-acetylcarnitine on sperm parameters in men with idiopathic oligoasthenozoospermia", *Andrologia*, 51(6), p. e13267.
100. Mora-Esteves C., Shin D. (2013), "Nutrient supplementation: improving male fertility fourfold", *Semin Reprod Med*, 31(4), pp. 293-300.
101. Mosoni L., Balage M., Vazaille E., et al (2010), "Antioxidant supplementation had positive effects in old rat muscle, but through better oxidative status in other organs", *Nutrition*, 26(11-12), pp. 1157-1162.
102. Moubasher A. E., El Din A. M., Ali M. E., et al (2013), "Catalase improves motility, vitality and DNA integrity of cryopreserved human spermatozoa", *Andrologia*, 45(2), pp. 135-139.

103. Nanayakkaraa S. D., Gihanb M. C. and Nanayakkarac P. S. K. (2022), "A review of scrotal temperature regulation and its importance for male fertility", *Sri Lanka Journal of Obstetrics and Gynaecology* 43, pp. 308-313.
104. Nandipati K. C., Pasqualotto F. F., Thomas A. J., Jr., et al (2005), "Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in vasectomy reversal patients", *Andrologia*, 37(4), pp. 131-134.
105. Nazari L., Salehpour S., Hosseini S., et al (2021), "Effect of antioxidant supplementation containing L-carnitine on semen parameters: a prospective interventional study", *JBRA Assist Reprod*, 25(1), pp. 76-80.
106. Niu J., Chang Q., Xu J., et al (2023), "Relationship of the levels of reactive oxygen species in the fertilization medium with the outcome of in vitro fertilization following brief incubation", *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14, p. 1133566.
107. Nketiah-Amponsah E., Afful-Mensah, G. & Ampaw, S (2018), "Determinants of cigarette smoking and smoking intensity among adult males in Ghana", *BMC Public Health*, 18, p. 941.
108. Noegroho B. S., Siregar S. and Tampubolon K. A. G. (2022), "Antioxidant Supplementation on Sperm DNA Fragmentation and Sperm Parameters: A Systematic Review and Meta-Analysis", *Turk J Urol*, 48(5), pp. 375-384.
109. Nowicka-Bauer K., Lepczynski A., Ozgo M., et al (2018), "Sperm mitochondrial dysfunction and oxidative stress as possible reasons for isolated asthenozoospermia", *J Physiol Pharmacol*, 69(3), pp. 403-417.
110. Okonofua F. E., Ntoimo L. F. C., Omonkhua A., et al (2022), "Causes and Risk Factors for Male Infertility: A Scoping Review of Published Studies", *Int J Gen Med*, 15, pp. 5985-5997.
111. Okubo T., Onda N., Hayashi T., et al (2023), "Performing a sperm DNA fragmentation test in addition to semen examination based on the WHO criteria can be a more accurate diagnosis of IVF outcomes", *BMC Urol*, 23(1), p. 78.
112. Omu A. E., Al-Azemi M. K., Kehinde E. O., et al (2008), "Indications of the mechanisms involved in improved sperm parameters by zinc therapy", *Med Princ Pract*, 17(2), pp. 108-116.

113. Ortiz A., Espino J., Bejarano I., et al (2011), "High endogenous melatonin concentrations enhance sperm quality and short-term in vitro exposure to melatonin improves aspects of sperm motility", *J Pineal Res*, 50(2), pp. 132-139.
114. Osadchuk L., Kleshchev M. and Osadchuk A. (2023), "Effects of cigarette smoking on semen quality, reproductive hormone levels, metabolic profile, zinc and sperm DNA fragmentation in men: results from a population-based study", *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14, p. 1255304.
115. Oumaima Ammar M. H. A., Tesnim Ajina, Mouna Gara, Ali Jlali and Meriem Mehdi (2022), "Tobacco and Alcohol Consumption Impairment of Sperm Morphology: its Relationship with Seminal Oxidative Stress and Socio- Demographic Characteristics", *Andrology & Gynecology: Current Research*, 10(3).
116. Palafox-Carlos H., Ayala-Zavala J. F. and Gonzalez-Aguilar G. A. (2011), "The role of dietary fiber in the bioaccessibility and bioavailability of fruit and vegetable antioxidants", *J Food Sci*, 76(1), pp. R6-R15.
117. Paltiel H. J., Diamond D. A., Di Canzio J., et al (2002), "Testicular volume: comparison of orchidometer and US measurements in dogs", *Radiology*, 222(1), pp. 114-119.
118. Panner Selvam M. K., Agarwal A., Henkel R., et al (2020), "The effect of oxidative and reductive stress on semen parameters and functions of physiologically normal human spermatozoa", *Free Radic Biol Med*, 152, pp. 375-385.
119. Pham K. C., Dao V. Q., Nguyen L. T. P., et al (2024), "The Etiology of Infertility in Couples Referred to Da Nang Hospital for Women and Children", *Journal of Obstetrics, Gynecology Cancer Research*, 9(4), pp. 463-470.
120. Pozza C., Kanakis G., Carlomagno F., et al (2020), "Testicular ultrasound score: A new proposal for a scoring system to predict testicular function", *Andrology*, 8(5), pp. 1051-1063.
121. Rana M., Agarwal A. (2020), "Seminal Oxidation-Reduction Potential", *Male Infertility: Contemporary Clinical Approaches, Andrology, ART Antioxidants*, pp. 377-387.

122. Rao M., Zhao X. L., Yang J., et al (2015), "Effect of transient scrotal hyperthermia on sperm parameters, seminal plasma biochemical markers, and oxidative stress in men", *Asian J Androl*, 17(4), pp. 668-675.
123. Ricci E., Al Beitawi S., Cipriani S., et al (2017), "Semen quality and alcohol intake: a systematic review and meta-analysis", *Reprod Biomed Online*, 34(1), pp. 38-47.
124. Ritchie C., Ko E. Y. (2021), "Oxidative stress in the pathophysiology of male infertility", *Andrologia*, 53(1), p. e13581.
125. Robert K. A., Sharma R., Henkel R., et al (2021), "An update on the techniques used to measure oxidative stress in seminal plasma", *Andrologia*, 53(2), p. e13726.
126. Rochdi C., Ouadrhiri M., Allai L., et al (2024), "Beneficial effects of oral antioxidant supplementation on semen quality parameters, reproductive hormones, and sperm DNA integrity in men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia", *Clin Exp Reprod Med*, pp. 135-141.
127. Romano M., Cirillo F., Spadaro D., et al (2023), "High sperm DNA fragmentation: do we have robust evidence to support antioxidants and testicular sperm extraction to improve fertility outcomes? a narrative review", *Front Endocrinol (Lausanne)*, 14, p. 1150951.
128. Rosen R. C., Riley A., Wagner G., et al (1997), "The international index of erectile function (IIEF): a multidimensional scale for assessment of erectile dysfunction", *Urology*, 49(6), pp. 822-830.
129. Ross C., Morriss A., Khairy M., et al (2010), "A systematic review of the effect of oral antioxidants on male infertility", *Reprod Biomed Online*, 20(6), pp. 711-723.
130. Roychoudhury S., Chakraborty S., Choudhury A. P., et al (2021), "Environmental Factors-Induced Oxidative Stress: Hormonal and Molecular Pathway Disruptions in Hypogonadism and Erectile Dysfunction", *Antioxidants (Basel)*, 10(6), p. 837.

131. Roychoudhury S., Sharma R., Sikka S., et al (2016), "Diagnostic application of total antioxidant capacity in seminal plasma to assess oxidative stress in male factor infertility", *J Assist Reprod Genet*, 33(5), pp. 627-635.
132. RPL E. G. G. o., Bender Atik R., Christiansen O. B., et al (2023), "ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss: an update in 2022", *Hum Reprod Open*, 2023(1), p. hoad002.
133. Russo G. I., Saleh R., Finocchi F., et al (2024), "Impact of Varicocele on Testicular Oxidative Stress and Sperm Parameters in Experimental Animals: A Systematic Review and Meta-Analysis", *World J Mens Health*, p. 42.
134. Sabeti P., Pourmasumi S., Rahiminia T., et al (2016), "Etiologies of sperm oxidative stress", *Int J Reprod Biomed*, 14(4), pp. 231-240.
135. Saleh R. A., Agarwal A., Sharma R. K., et al (2002), "Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study", *Fertil Steril*, 78(3), pp. 491-499.
136. Salonia A., Bettocchi C., Boeri L., et al (2021), "European Association of Urology Guidelines on Sexual and Reproductive Health-2021 Update: Male Sexual Dysfunction", *Eur Urol*, 80(3), pp. 333-357.
137. Salvio G., Cutini M., Ciarloni A., et al (2021), "Coenzyme Q10 and Male Infertility: A Systematic Review", *Antioxidants (Basel)*, 10(6), p. 874.
138. Sansone A., Di Dato C., de Angelis C., et al (2018), "Smoke, alcohol and drug addiction and male fertility", *Reprod Biol Endocrinol*, 16(1), p. 3.
139. Santi D., Spaggiari G. and Simoni M. (2018), "Sperm DNA fragmentation index as a promising predictive tool for male infertility diagnosis and treatment management - meta-analyses", *Reprod Biomed Online*, 37(3), pp. 315-326.
140. Sarmidi S., Wahab A. Y. A., Azizan A. S. B., et al (2022), "Efficacy of antioxidant supplementation on sperm quality in men with oligoasthenoteratozoospermia", *Antioxidants ameliorate sperm quality*, pp. 53-65.

141. Scaruffi P., Licata E., Maccarini E., et al (2021), "Oral Antioxidant Treatment of Men Significantly Improves the Reproductive Outcome of IVF Cycles", *J Clin Med*, 10(15), p. 3254.
142. Schulte R. T., Ohl D. A., Sigman M., et al (2010), "Sperm DNA damage in male infertility: etiologies, assays, and outcomes", *J Assist Reprod Genet*, 27(1), pp. 3-12.
143. Semiz I., Tokgoz O., Tokgoz H., et al (2014), "The investigation of correlation between semen analysis parameters and intraparenchymal testicular spectral Doppler indices in patients with clinical varicocele", *Ultrasound Q*, 30(1), pp. 33-40.
144. Sengupta P., Nwagha U., Dutta S., et al (2017), "Evidence for decreasing sperm count in African population from 1965 to 2015", *Afr Health Sci*, 17(2), pp. 418-427.
145. Shahat A. M., Rizzoto G. and Kastelic J. P. (2020), "Amelioration of heat stress-induced damage to testes and sperm quality", *Theriogenology*, 158, pp. 84-96.
146. Sharma A. P., Sharma G. and Kumar R. (2022), "Systematic Review and Meta-analysis on Effect of Carnitine, Coenzyme Q10 and Selenium on Pregnancy and Semen Parameters in Couples With Idiopathic Male Infertility", *Urology*, 161, pp. 4-11.
147. Showell M. G., Mackenzie-Proctor R., Brown J., et al (2014), "Antioxidants for male subfertility", *Cochrane Database Syst Rev*(12), p. CD007411.
148. Smits R. M., Mackenzie-Proctor R., Yazdani A., et al (2019), "Antioxidants for male subfertility", *Cochrane Database Syst Rev*, 3(3), p. CD007411.
149. Spaggiari G., AR M. G. and Santi D. (2020), "Testicular ultrasound inhomogeneity is an informative parameter for fertility evaluation", *Asian J Androl*, 22(3), pp. 302-308.
150. Sposito C., Camargo M., Tibaldi D. S., et al (2017), "Antioxidant enzyme profile and lipid peroxidation products in semen samples of testicular germ cell tumor patients submitted to orchiectomy", *Int Braz J Urol*, 43(4), pp. 644-651.

151. Tahmasbpour E., Balasubramanian D. and Agarwal A. (2014), "A multi-faceted approach to understanding male infertility: gene mutations, molecular defects and assisted reproductive techniques (ART)", *J Assist Reprod Genet*, 31(9), pp. 1115-1137.
152. Takashi Tanaka Y. K., Kazutaka Terai, Yasuyuki Inoue, Akiyoshi Osaka, Naoki Yoshikawa, Yukihiro Shimomura và cs (2019), "Seminal oxidation–reduction potential and sperm DNA fragmentation index increase among infertile men with varicocele", *Human Fertility*, pp. 142-146.
153. Tavalani H., Goodarzi M. T., Vaisi-raygani A., et al (2008), "Activity of antioxidant enzymes in seminal plasma and their relationship with lipid peroxidation of spermatozoa", *Int Braz J Urol*, 34(4), pp. 485-491.
154. Tilahun T., Oljira R. and Getahun A. (2022), "Pattern of semen analysis in male partners of infertile couples in Western Ethiopia: Retrospective cross-sectional study", *SAGE Open Med*, 10, p. 20503121221088100.
155. Tomita K., Udayanga K. G. S., Satoh M., et al (2023), "Relation between semen oxidative reduction potential in initial semen examination and IVF outcomes", *Reprod Med Biol*, 22(1), p. e12501.
156. Torres-Arce E., Vizmanos B., Babio N., et al (2021), "Dietary Antioxidants in the Treatment of Male Infertility: Counteracting Oxidative Stress", *Biology (Basel)*, 10(3), p. 241.
157. Tunc O., Thompson J. and Tremellen K. (2009), "Improvement in sperm DNA quality using an oral antioxidant therapy", *Reprod Biomed Online*, 18(6), pp. 761-768.
158. Vaughan D. A., Tirado E., Garcia D., et al (2020), "DNA fragmentation of sperm: a radical examination of the contribution of oxidative stress and age in 16 945 semen samples", *Hum Reprod*, 35(10), pp. 2188-2196.
159. Vossen E., Ntawubizi M., Raes K., et al (2011), "Effect of dietary antioxidant supplementation on the oxidative status of plasma in broilers", *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 95(2), pp. 198-205.

160. Wirleitner B., Vanderzwalmen P., Stecher A., et al (2012), "Dietary supplementation of antioxidants improves semen quality of IVF patients in terms of motility, sperm count, and nuclear vacuolization", *Int J Vitam Nutr Res*, 82(6), pp. 391-398.
161. Wong W. Y., Merkus H. M., Thomas C. M., et al (2002), "Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial", *Fertil Steril*, 77(3), pp. 491-498.
162. Wood G. J. A., Cardoso J. P. G., Paluello D. V., et al (2021), "Varicocele-Associated Infertility and the Role of Oxidative Stress on Sperm DNA Fragmentation", *Front Reprod Health*, 3, p. 695992.
163. World Health Organization (2010), *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*, fifth edn., WHO Press, Geneva, Switzerland.
164. World Health Organization (2018), "International Classification of Diseases, 11th Revision (ICD-11) ", *Geneva: WHO 2018*.
165. World Health Organization (2021), *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*, 6th ed. WHO Press; Geneva, Switzerland.
166. World Health Organization (2024), *Infertility*, accessed, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>.
167. World Health Organization, Regional Office for the Western Pacific (2000), "The Asia-Pacific perspective: redefining obesity and its treatment", *Health Communications Australia*, p. 20.
168. Yao D. F., Mills J. N. (2016), "Male infertility: lifestyle factors and holistic, complementary, and alternative therapies", *Asian J Androl*, 18(3), pp. 410-418.
169. Yu X., Zhang, S., Zhang, X. et al. (2023), "Sperm quality impairment in males of couples with pregnancy loss is correlated with sexual dysfunction: a cross-sectional study", *Reprod Biol Endocrinol*, 21(11), p. 11.
170. Zelen I., Mitrović M., Jurisic-Skevin A., et al (2010), "Activity of superoxide dismutase and catalase and content of malondialdehyde in seminal plasma of infertile patients", *Med Pregl*, 63(9-10), pp. 624-629.

171. Zhang M. H., Shi Z. D., Yu J. C., et al (2015), "Scrotal heat stress causes sperm chromatin damage and cysteinyl aspartate-specific proteinases 3 changes in fertile men", *J Assist Reprod Genet*, 32(5), pp. 747-755.
172. Zhang Q., Radisavljevic Z. M., Siroky M. B., et al (2011), "Dietary antioxidants improve arteriogenic erectile dysfunction", *Int J Androl*, 34(3), pp. 225-235.
173. Zini A., San Gabriel M. and Baazeem A. (2009), "Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective", *J Assist Reprod Genet*, 26(8), pp. 427-432.

CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC ĐÃ CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI

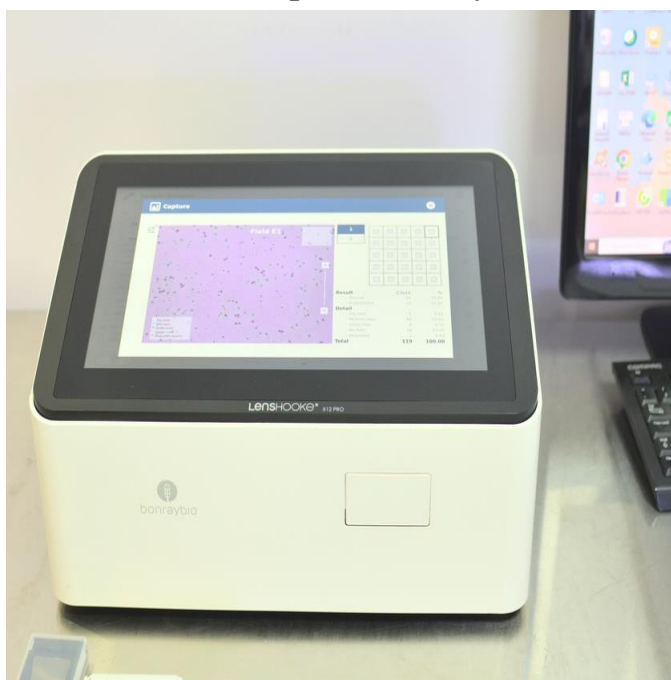
1. Nguyen ND, Le MT, Dang HNT, Van Nguyen T, Nguyen QHV, Cao TN. Impact of semen oxidative stress on sperm quality: initial results from Vietnam. *J Int Med Res.* 2023 Aug;51(8):3000605231188655.
2. Nguyen ND, Le MT, Tran NQT. et al. Micronutrient supplements as antioxidants in improving sperm quality and reducing DNA fragmentation. *Basic Clin. Androl.* 2023;33:23.
3. Nguyễn Đắc Nguyên, Cao Ngọc Thành, Lê Minh Tâm. Nghiên cứu tình trạng stress oxy hoá trong mẫu tinh dịch của nam giới vô sinh và các yếu tố liên quan. *Tạp chí Y Dược Huế - Trường Đại học Y - Dược, Đại học Huế.* 2024; 5(14):184-190.
4. Lê Thị Thuận Mỹ., Nguyễn Đắc Nguyên, Trần Thị Như Quỳnh, Lê Minh Tâm. Nghiên cứu ảnh hưởng hội chứng chuyển hóa ở nam giới cặp vợ chồng vô sinh và kết quả thụ tinh nhân tạo. *Tạp Chí Phụ sản.* 2022;19(3):48-56.
5. Le MT, Tran NQT, Nguyen ND, Nguyen QHV. The Prevalence and Components of Metabolic Syndrome in Men from Infertile Couples and Its Relation on Semen Analysis. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2021;29(14):1453-1463.
6. Le MT, Nguyen DN, Le DD, Tran NQT. Impact of body mass index and metabolic syndrome on sperm DNA fragmentation in males from infertile couples: A cross-sectional study from Vietnam. *Metabol Open.* 2020;20(7):100054.
7. Le MT, Nguyen DN, Tam Nguyen TT, Nguyen VQH, Pham CK, Le DD, Cao NT. Should Scrotal Color Doppler Ultrasound Be Routinely Indicated in Fertility Evaluation of Non-Azoospermic Men? *Curr Urol.* 2020 Dec;14(4):211-218.

PHỤ LỤC

1. CÁC PHƯƠNG TIỆN NGHIÊN CỨU



Máy phân tích xét nghiệm miễn dịch Cobas E (Cobas 6000/8000) và Roche/Cobas C (Module Cobas 6000/8000) của hãng Roche Diagnostics, Indianapolis, Hoa Kỳ.



Hệ thống phân tích tinh trùng tự động LensHooke X12 PRO

2. PHIẾU NGHIÊN CỨU

ID:.....

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG STRESS OXY HOÁ LÊN CHỨC NĂNG SINH SẢN Ở NAM GIỚI VÀ KẾT QUẢ CỦA LIỆU PHÁP CHỐNG OXY HÓA

Mã hồ sơ

Điện thoại:.....

Ngày đến khám.....

A. Thông tin chung		
A 1	Họ và tên (chồng/vợ)	
A 2	Năm sinh	
A 3	Nghề nghiệp	1. ☐ Văn phòng 2. ☐ Lao động 3. ☐ Khác:
A 4	Vị trí địa lý	1. ☐ Thành thị 2. ☐ Nông thôn
A 5	Trình độ học vấn	1. ☐ Mù chữ 2. ☐ Trung học 3. ☐ Cao đẳng/Đại học
A 6	Thông tin khác	1. Hút thuốc: ☐ Có ☐ Không *Nếu có hút thuốc: 1a. Thời gian hút (năm)..... 1b. Số lượng gói hàng ngày (gói/ngày) 2. Uống rượu: ☐ Có ☐ Không *Nếu có uống rượu: 2a. Loại còn uống: ☐ rượu trắng ☐ rượu vang ☐ bia

		2b. Thể tích uống trung bình hằng ngày (ml) 3. Có tiếp xúc với môi trường nhiệt độ cao thường xuyên: ☐ có ☐ không 4. Có tiếp xúc với môi trường có nhiều hoá chất: ☐ Có ☐ Không 5. Tần suất quan hệ (lần/tuần).....
B. Tiền sử bệnh lý		
B1	Tiền sử bệnh lý nội khoa	1. Quai bị ☐ Có ☐ Không 2. Viêm tinh hoàn ☐ Có ☐ Không 3. Giãn tĩnh mạch tinh ☐ Có ☐ Không 4. Thoát vị bẹn ☐ Có ☐ Không 5. Viêm đường sinh dục ☐ Có ☐ Không
B2	Tiền sử ngoại khoa	1. Phẫu thuật thoát vị bẹn ☐ Có ☐ Không 2. Phẫu thuật giãn tĩnh mạch tinh ☐ Có ☐ không 3. Phẫu thuật khác ☐ Có ☐ không Nếu có, loại phẫu thuật gì.....
C. Thăm khám lâm sàng		
C1	Loại vô sinh	1. ☐ Nguyên phát 2. ☐ Thứ phát
C2	Toàn thân	1. Chiều cao (m):..... 2. Cân nặng (kg):..... 3. Vòng bụng/Vòng mông (cm):..... 4. Huyết áp (mmHg):.....
C3	Cơ quan	1. Mật độ tinh hoàn ☐ Bình thường ☐ Bất thường 2. Thể tích tinh hoàn ☐ Bình thường ☐ Bất thường Thể tích tinh hoàn (T)..... Thể tích tinh hoàn (P).....

		3. Mật độ mào tinh hoàn ☐ Bình thường ☐ Bất thường 4. Thể tích mào tinh hoàn ☐ Bình thường ☐ Bất thường 5. Hẹp bao quy đầu ☐ Có ☐ Không 6. Tinh hoàn ẩn ☐ Có ☐ Không 7. Sờ thấy u cục ☐ Có ☐ Không 8. Cảm giác đau nhiều khi khám ☐ Có ☐ Không 9. Rối loạn cương dương ☐ Có ☐ Không 10. Hẹp niệu đạo ☐ Có ☐ Không 11. Giãn tĩnh mạch tinh ☐ Không ☐ Độ 1 ☐ Độ 2 ☐ Độ 3
D. Thăm khám cận lâm sàng		
D 1	Nồng độ hormon	1. FSH:..... 2. LH:..... 3. Testosterone:..... 4. Prolactin.....
D 2	Xét nghiệm sinh hoá	1. Glucose huyết thanh..... 2. Cholesterol toàn phần..... 3. LDL-C..... 4.HDL-C..... 5. Triglycerids máu.....
D 3	Siêu âm	1. Thể tích tinh hoàn (trái).....(phải)..... 2.RI(trái).....(phải)..... ... 3.PSV (trái).....(phải)..... 4.EDV (trái).....(phải)..... 5. Giãn tĩnh mạch tinh ☐ không ☐ độ 1

		☐ độ 2 ☐ độ 3
		6. Các phát hiện bất thường khác.....
D 4	Tinh dịch đồ	1. pH..... 2. Thể tích (ml)..... 3. Bạch cầu..... 4. Đại thể 4a. Màu sắc..... 4b. Độ nhớt..... 5. Mật độ..... 6. Độ di động: 6a. a(%)..... 6b. b(%)..... 6c. c(%)..... 6d. d(%)..... 7. Tỷ lệ tinh trùng sống (%)..... 8. Tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường(%)..... 9. Tỷ lệ tinh trùng bất thường đầu (%)..... 10. Tỷ lệ tinh trùng bất thường cổ-đuôi (%).....
D 5	Độ đứt gãy DNA tinh trùng	1. Quảng halo lớn..... 2. Quảng halo trung bình..... 3. Quảng halo nhỏ..... 4. Không có quảng halo..... 5. Degraded sperm..... 6. DFI.....
D 6	Giá trị ROS	1. ORP (mV/1 triệu tinh trùng/mL).....
E. Sau điều trị chống oxy hoá		

E1	Tinh dịch đồ	1. pH..... 2. Thể tích (ml)..... 3. Bạch cầu..... 4. Đại thể 4a. Màu sắc..... 4b. Độ nhớt..... 5. Mật độ..... 6. Độ di động: 6a. a(%)..... 6b. b(%)..... 6c. c(%)..... 6d. d(%)..... 7. Tỷ lệ tinh trùng sống (%)..... 8. Tỷ lệ tinh trùng hình thái bình thường(%)..... 9. Tỷ lệ tinh trùng bất thường đầu (%)..... 10. Tỷ lệ tinh trùng bất thường cổ-đuôi (%).....
E2	Độ đứt gãy DNA tinh trùng	1. Quầng halo lớn..... 2. Quầng halo trung bình..... 3. Quầng halo nhỏ..... 4. Không có quầng halo..... 5. Degraded sperm..... 6. DFI.....
E3	Giá trị ROS	1. ORP (mV/1 triệu tinh trùng/mL).....
F. Thang điểm IIEF (trước/sau điều trị)		
F1. Trước điều trị		
1/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thường cương được dương vật trong lúc hoạt động tình dục hay không? (1 - 5 điểm) 2/ Trong 4 tuần lễ qua, khi bạn có cương dương vật do kích thích tình dục, dương vật của bạn đủ		

cương cứng để đưa vào âm đạo không? (1 - 5 điểm) 3/ Trong 4 tuần lễ qua, khi bạn muốn giao hợp, bạn có đưa được dương vật vào âm đạo người phụ nữ không? (1 - 5 điểm) 4/ Trong 4 tuần lễ qua, suốt trong lúc giao hợp, bạn có duy trì được độ cương sau khi đã đưa được dương vật vào âm đạo người phụ nữ hay không? (1 - 5 điểm) 5/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy khó khăn khi duy trì cương dương vật để giao hợp trọn vẹn không? (1 - 5 điểm) 6/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn ước lượng sự tự tin mà bạn có được trong việc duy trì cương dương vật như thế nào? (1 - 5 điểm) 7/ Trong 4 tuần lễ qua, có bao nhiêu lần giao hợp? (1 - 5 điểm) 8/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy thỏa mãn khi giao hợp không? (1 - 5 điểm) 9/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy thích thú trong khi giao hợp không? (1 - 5 điểm) 10/ Trong 4 tuần lễ qua khi được kích thích tình dục hay giao hợp, bạn có xuất tinh hay không? (1 - 5 điểm) 11/ Trong 4 tuần lễ qua khi được kích thích tình dục hay giao hợp, bạn có cảm thấy cực khoái hay không? (1 - 5 điểm) 12/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có cảm thấy ham môn tình dục không? (1 - 5 điểm).....	
---	--

13/ Trong 4 tuần lễ qua, sự ham muốn tình dục của bạn gia tăng đến độ nào? (1 - 5 điểm) 14/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy hài lòng với cuộc sống tình dục của mình không? (1 - 5 điểm) 15/ Trong 4 tuần lễ qua, trong quan hệ tình dục với phụ nữ có làm cho người phụ nữ hài lòng không? (1 - 5 điểm)	Tổng
F2. Sau điều trị	
1/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thường cương được dương vật trong lúc hoạt động tình dục hay không? (1 - 5 điểm) 2/ Trong 4 tuần lễ qua, khi bạn có cương dương vật do kích thích tình dục, dương vật của bạn đủ cương cứng để đưa vào âm đạo không? (1 - 5 điểm) 3/ Trong 4 tuần lễ qua, khi bạn muốn giao hợp, bạn có đưa được dương vật vào âm đạo người phụ nữ không? (1 - 5 điểm) 4/ Trong 4 tuần lễ qua, suốt trong lúc giao hợp, bạn có duy trì được độ cương sau khi đã đưa được dương vật vào âm đạo người phụ nữ hay không? (1 - 5 điểm) 5/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy khó khăn khi duy trì cương dương vật để giao hợp trọn vẹn không? (1 - 5 điểm) 6/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn ước lượng sự tự tin mà bạn có được trong việc duy trì cương dương vật như thế nào? (1 - 5 điểm) 7/ Trong 4 tuần lễ qua, có bao nhiêu lần giao hợp? (1 - 5 điểm)	

8/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy thỏa mãn khi giao hợp không? (1 - 5 điểm) 9/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy thích thú trong khi giao hợp không? (1 - 5 điểm) 10/ Trong 4 tuần lễ qua khi được kích thích tình dục hay giao hợp, bạn có xuất tinh hay không? (1 - 5 điểm) 11/ Trong 4 tuần lễ qua khi được kích thích tình dục hay giao hợp, bạn có cảm thấy cực khoái hay không? (1 - 5 điểm) 12/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có cảm thấy ham môn tình dục không? (1 - 5 điểm)..... 13/ Trong 4 tuần lễ qua, sự ham muốn tình dục của bạn gia tăng đến độ nào? (1 - 5 điểm) 14/ Trong 4 tuần lễ qua, bạn có thấy hài lòng với cuộc sống tình dục của mình không? (1 - 5 điểm) 15/ Trong 4 tuần lễ qua, trong quan hệ tình dục với phụ nữ có làm cho người phụ nữ hài lòng không? (1 - 5 điểm)	Tổng
--	--------------------

3. PHIẾU ĐỒNG Ý THAM GIA NGHIÊN CỨU

Họ và tên người tham gia nghiên cứu:

Tuổi:

Địa chỉ:.....

Điện thoại (nếu có):

Sau khi được cán bộ nghiên cứu thông báo về mục đích, quyền lợi, nghĩa vụ, những nguy cơ tiềm tàng và thông tin chi tiết của nghiên cứu liên quan đến đối tượng tham gia vào nghiên cứu. Tôi (hoặc người đại diện trong gia đình) đồng ý tình nguyện tham gia vào nghiên cứu này.

Tôi xin tuân thủ các qui định của nghiên cứu.

..... ngày.....tháng.....năm.....

Họ tên của người tham gia nghiên cứu

(Ký và ghi rõ họ tên)

4. PHIẾU CUNG CẤP THÔNG TIN VÀ CHẤP THUẬN

THAM GIA NGHIÊN CỨU

Tên dự án nghiên cứu: **"Nghiên cứu ảnh hưởng stress oxy hoá lên chức năng sinh sản ở nam giới và kết quả của liệu pháp chống oxy hóa"**

Chủ nhiệm đề tài: Ths.Bs. Nguyễn Đắc Nguyên, NCS Trường Đại học Y-Dược, Đại Học Huế, thành phố Huế, Việt Nam.

Giới thiệu/Mục đích

Chúng tôi mời anh chị tham gia nghiên cứu có tên là: **"Nghiên cứu ảnh hưởng stress oxy hoá lên chức năng sinh sản ở nam giới và kết quả của liệu pháp chống oxy hóa"**. Mục đích của nghiên cứu này là khảo sát ảnh hưởng của stress oxy hoá lên chất lượng tinh trùng dựa vào kết quả tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng ở các trường hợp vô sinh.; và đánh giá kết quả của liệu pháp chống oxy hoá lên một số chỉ số chất lượng tinh trùng. Mục tiêu lâu dài của nghiên cứu là nhằm cung cấp cơ sở khoa học để đề xuất phương pháp mới giúp khảo sát chất lượng tinh trùng ở nam giới vô sinh.

Tiến trình nghiên cứu

Tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu: cán bộ y tế tiến hành quy trình thăm khám vô sinh thường quy nam giới từ cặp vợ chồng vô sinh. Người tham gia sẽ được đánh giá đặc điểm cơ quan sinh dục, đặc điểm chức năng tình dục và sẽ được thăm dò bằng các phương pháp như nội tiết sinh dục, siêu âm bìu, tinh dịch đồ, đánh giá đứt gãy DNA tinh trùng, và khảo sát đo stress oxy hoá bằng phương pháp cân bằng thể oxy hoá khử. Những trường hợp có tình trạng suy giảm chất lượng tinh trùng, hoặc tăng đứt gãy DNA tinh trùng, hoặc có stress oxy hoá trong tinh dịch sẽ được tiến hành chỉ định điều trị bằng phác đồ chất chống oxy hoá bằng Profortil trong 3 tháng (02 viên/ngày).

Sau 3 tháng kể từ khi điều trị, người tham gia sẽ được tái khám và đánh giá lại đặc điểm chức năng tinh dục, khảo sát tinh dịch đồ, đứt gãy DNA tinh trùng, và stress oxy hoá tinh dịch.

Trong quá trình uống thuốc nếu có thai tự nhiên, anh vui lòng liên hệ với nghiên cứu viên để báo kết quả và ngừng uống thuốc, sau đó chúng tôi sẽ hẹn lịch anh để theo dõi thai kỳ.

Trong trường hợp cần thiết chúng tôi có thể sẽ mời anh tham gia cung cấp thông tin về các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình điều trị bệnh và tình trạng sức khỏe của anh.

Các bước được áp dụng để thu thập thông tin về tình trạng sức khỏe của anh đều là những bước chăm sóc sức khỏe trong điều trị vô sinh. Mọi thông tin trong nghiên cứu đều được giữ bí mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu. Thông tin cá nhân của anh sẽ được mã hóa và sẽ được giữ kỹ, sau đó sẽ được huỷ khi dữ liệu đã được nhập và phân tích.

Nguy hại

Trong quá trình tham gia nghiên cứu anh có thể có những nguy hại sau đây: Hơi đau khi lấy máu, sốc do đau khi lấy máu, lây nhiễm chéo do lấy máu, tác dụng phụ của thuốc điều trị, lộ bí mật thông tin cá nhân. Các tác dụng phụ của thuốc điều trị có thể kể đến: buồn nôn, nôn, khó chịu đường tiêu hóa, mệt người, dị ứng...

Tuy nhiên, các nghiên cứu viên sẽ thực hiện rất nghiêm ngặt các bước nhằm đảm bảo hạn chế tối đa nguy hại cho anh: Kỹ thuật viên lấy máu là người có kinh nghiệm sẽ giảm đau tối đa, chỉ dùng bơm kim tiêm vô khuẩn và một lần, thông tin anh cung cấp chỉ có nghiên cứu viên chính được biết và không có tên của anh khi công bố các thông tin cá nhân. Thuốc sử dụng được chứng minh có khả năng giúp cải thiện chất lượng tinh trùng. Các tác dụng phụ (nếu có) thường nhẹ và có thể tự biến mất. Rất hiếm khi

xuất hiện các biến chứng nặng. Ngay khi xuất hiện các dấu hiệu nghi ngờ tác dụng phụ, anh liên hệ nghiên cứu viên để được tư vấn và hỗ trợ.

Lợi ích

Anh có thể đạt được nguyện vọng có thai trong quá trình nghiên cứu, hoặc có thể đạt được các cải thiện về chất lượng tinh trùng, chất lượng đời sống tình dục... Anh cũng sẽ được theo dõi thai kỳ và tư vấn sức khỏe thai kỳ. Ngoài ra, chúng tôi (các bác sỹ, nhà nghiên cứu, nhà khoa học) cũng có thể rút ra những bài học mới để làm tốt hơn việc quản lý và điều trị vô sinh ở nam giới.

Giữ bí mật thông tin

Mọi thông tin trong nghiên cứu đều được giữ bí mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu. Thông tin cá nhân của anh sẽ được mã hóa và sẽ được giữ kỹ, sau đó sẽ được huỷ khi dữ liệu đã được nhập và phân tích. Mẫu máu của anh sẽ được huỷ sau khi chúng tôi có kết quả xét nghiệm. Chúng tôi sẽ thông báo cho anh kết quả xét nghiệm của anh.

Tham gia tự nguyện và rút khỏi nghiên cứu

Việc tham gia phỏng vấn của anh là hoàn toàn tự nguyện. Nếu muốn anh có thể từ chối không tham gia cuộc phỏng vấn hoặc không trả lời các câu hỏi vào bất cứ lúc nào. Anh sẽ không phải trả bất kỳ một khoản lệ phí nào cho nghiên cứu này.

Khi thực hiện quản lý điều trị vô sinh, anh phải tự chi trả các khoản do cơ sở y tế yêu cầu.

Anh có quyền từ chối tham gia nghiên cứu mà không có bất cứ hình phạt hay điều gì nguy hại tới cuộc sống hàng ngày của anh. Thậm chí khi anh đã đồng ý tham gia nghiên cứu, anh vẫn có thể xin rút khỏi nghiên cứu nếu anh thấy không tiện cho anh.

Việc anh xin không tiếp tục tham gia nghiên cứu sẽ không ảnh hưởng tới việc khám chữa bệnh của anh trung tâm chúng tôi.

Anh Chị còn có câu hỏi nào nữa không?

Liên hệ

Nếu anh có câu hỏi gì thêm về nghiên cứu, có thể liên hệ với Ths.Bs Nguyễn Đắc Nguyên, chủ nhiệm đề tài theo địa chỉ dưới đây: Ths.Bs Nguyễn Đắc Nguyên, NCS Trường Đại học Y-Dược, Đại học Huế. Điện thoại: 0774534766; hoặc số hotline của Trung tâm Nội tiết Sinh sản và Vô sinh, Bệnh viện Trường Đại học Y-Dược Huế 0234.6269696.

Cam đoan của người tham gia nghiên cứu:

Sau khi nghe phỏng vấn viên giải thích các thắc mắc tôi tình nguyện tham gia nghiên cứu. Tôi biết rằng tôi có thể rút khỏi nghiên cứu bất cứ khi nào tôi muốn và phỏng vấn viên sẽ sẵn sàng trả lời những thắc mắc tôi có trong thời gian thực hiện nghiên cứu này.

Ngày...tháng...năm...

Tên người tham gia nghiên cứu

Cam đoan của điều tra viên:

"Tôi đã giải thích đầy đủ cho người tự nguyện tham gia nghiên cứu biết được quy trình cần phải thực hiện trong nghiên cứu này cũng như những nguy cơ và lợi ích khi tham gia vào nghiên cứu."

Ngày...tháng...năm...

Tên phỏng vấn viên